

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

JÉSSICA AFLÁVIO DOS SANTOS

**ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DE
POLIMORFISMOS DO GENE *CYP1B1*
MATERNO NA IDADE GESTACIONAL DE
NASCIMENTO: UMA CORRELAÇÃO
CLÍNICA E MOLECULAR**

VITÓRIA

2017

JÉSSICA AFLÁVIO DOS SANTOS

**ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS DO GENE *CYP1B1*
MATERNO NA IDADE GESTACIONAL DE NASCIMENTO: UMA
CORRELAÇÃO CLÍNICA E MOLECULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof Dr Iúri Drumond Louro.

VITÓRIA

2017

JÉSSICA AFLÁVIO DOS SANTOS

**ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS DO GENE *CYP1B1*
MATERNO NA IDADE GESTACIONAL DE NASCIMENTO: UMA
CORRELAÇÃO CLÍNICA E MOLECULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Apresentada em 20 de Abril de 2017.

Prof. Dr. Iúri Drumond Louro

Universidade Federal do Espírito Santo

Orientador

Prof. Dr. Elizeu Fagundes de Carvalho

Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Marcelo dos Santos

Universidade Federal do Rio Grande do Norte

VITÓRIA

2017

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me permitido e me ajudado a chegar até aqui;

Aos meus pais Shirlei e Marco, ao meu irmão Igor, ao meu namorado Lucas e a toda a minha família por terem sempre acreditado em mim, me incentivado e me dado forças para seguir minha carreira acadêmica;

Ao Prof. Dr. Elizeu Fagundes de Carvalho, por seu deslocamento para participar da banca examinadora dessa dissertação como membro externo;

Ao Prof. Dr. Marcelo dos Santos, por ter se disponibilizado em participar como membro suplente da banca examinadora dessa dissertação;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Iúri Drumond Louro, por todo apoio e incentivo que me permitiram finalizar esse trabalho dando o meu melhor;

À Dr. Raquel Spinassé Detogni por toda ajuda ao longo do desenvolvimento do projeto e elaboração da dissertação;

Ao Diego Ventorim e Eric Arrivabene pela ajuda nas análises moleculares;

Aos meus amigos do laboratório, pelo apoio, companheirismo e ajuda ao longo de todo o desenvolvimento do trabalho;

Aos integrantes do Núcleo de Investigação em Saúde Nutrição Materno-Infantil da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, em especial à Gisele, pela ajuda e disponibilização das amostras e dados utilizados no trabalho;

Ao Prof. Dr. Djanilson Barbosa, pelo auxílio nas análises estatísticas;

À Universidade Federal do Espírito Santo, por permitir e possibilitar que eu desenvolvesse esse projeto;

Ao laboratório NGHM (Núcleo de Genética Humana e Molecular), onde realizei os experimentos necessários para o desenvolvimento desse projeto;

Ao Laboratório de Biotecnologia Aplicada ao Agronegócio (LBAA), onde foi realizada parte da genotipagem das amostras de DNA necessária para o desenvolvimento do projeto;

À FAPES (Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo), pelo financiamento do projeto.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo financiamento da minha bolsa de mestrado.

RESUMO

Atualmente, tanto a prematuridade quanto nascimentos ocorridos no período pré-termo tardio e a termo inicial têm se destacado pela sua influência negativa na mortalidade e morbidade infantil. Vários fatores de risco têm sido associados à diminuição da idade gestacional de nascimento. Dentre os fatores de risco ambientais pode-se citar o cigarro, ingestão excessiva de álcool, etnia, peso e idade materna. Em relação aos fatores genéticos, polimorfismos genéticos envolvidos no estresse oxidativo e na metabolização de xenobióticos tem sido fortemente associados ao parto prematuro. Este é o caso do gene *CYP1B1*, que também desempenha um papel importante na síntese de estrogênio, um dos hormônios mais importantes na manutenção da gravidez. A ação da enzima CYP1B1 pode resultar na produção de compostos considerados reativos e carcinogênicos, devido à hidroxilação preferencial do 17 β -estradiol na posição 4-hidroxi. Isto pode gerar estresse oxidativo, considerado um fator etiológico primário para o parto prematuro por poder causar um comprometimento na placenta. Os polimorfismos rs10012, rs1056827, rs1056836 foram selecionados para este trabalho estarem relacionados a variações na atividade desta enzima. Desta forma, o presente estudo tem como objetivo investigar a possível influência destes polimorfismos, assim como de dados clínicos e de hábitos de vida maternos na idade gestacional de nascimento. Para isto, foi realizado um delineamento de coorte prospectivo com gestantes do Município de Santo Antônio de Jesus, no Estado da Bahia, Brasil. As mães foram acompanhadas durante a gestação, parto e puerpério entre os anos de 2009 e 2016. As características e hábitos maternos foram obtidas por meio de questionários padronizados. Foi realizada a genotipagem a partir de amostras de sangue das gestantes com ensaios TaqMan® pela técnica de Reação em Cadeira da Polimerase (PCR) em Tempo Real. Gestantes que realizaram o parto no período a termo inicial possuíam idade materna e o Índice de Massa Corporal (IMC) pré-gestacional médios maiores em comparação com as gestantes que tiveram parto nos períodos prematuro e a termo. Os intervalos de IMC pré-gestacional, etnia, hábito tabagista e etilista não demonstraram associação significativa com a idade gestacional de nascimento. Foi detectada uma correlação significativa entre o SNP rs1056836 e a idade materna e o IMC pré-gestacional. Nenhuma das demais variáveis analisadas demonstraram associação significativa com nenhum dos outros polimorfismos. Não foi detectada uma associação direta entre nenhum dos polimorfismos analisados e a idade gestacional de nascimento. A partir dos resultados obtidos por este trabalho, não se

pode descartar uma possível relação do gene *CYP1B1* com a idade gestacional de nascimento. Trabalhos posteriores são necessários para analisar a possível associação destes polimorfismos com a idade gestacional de nascimento em outros grupos étnicos, além de realizar investigações mais abrangentes incluindo outros genes e polimorfismos, assim como fatores ambientais de risco para a prematuridade.

Palavras-chave: Idade gestacional de nascimento. Parto prematuro. *CYP1B1*. Gravidez. Polimorfismos. Fatores de risco.

ABSTRACT

Currently, both prematurity and births occurring in the late preterm and in the early term have been highlighted by their negative influence on infant mortality and morbidity. Several risk factors have been associated with decreased gestational age at birth. Environmental risk factors include cigarette smoking, excessive alcohol intake, ethnicity, weight and maternal age. Regarding genetic factors, genetic polymorphisms involved in oxidative stress and xenobiotics metabolism have been strongly associated with preterm birth. This may generate oxidative stress, considered a primary etiological factor for preterm birth because it can cause a compromised placenta. This is the case of the *CYP1B1* gene, which also plays an important role in the estrogen synthesis, one of the most important hormones in pregnancy maintenance. The action of the enzyme CYP1B1 may result in the production of reactive and carcinogenic compounds due to the preferential hydroxylation of 17 β -estradiol at the 4-hydroxy position. The polymorphisms rs10012, rs1056827, rs1056836 were selected for this work because they are associated with variations in this enzyme activity. Thus, the present study aims to investigate the possible influence of these polymorphisms, as well as clinical data and maternal life habits in gestational age at birth. For such, a prospective cohort study was carried out with pregnant women from the Santo Antônio de Jesus city, in State of Bahia, Brazil. Mothers were followed during gestation, delivery and puerperium between 2009 and 2016. Maternal characteristics and habits were obtained through standardized questionnaires. Genotyping was performed from blood samples from pregnant women with TaqMan® assays using the Real Time Polymerase Chain Reaction (PCR) technique. Pregnant women who delivered in the initial full-term period had higher mean maternal age and pre-gestational Body Mass Index (BMI) than the preterm and full-term periods. Pre-gestational BMI intervals, race, smoking, and alcoholic showed no significant association with gestational age at birth. A significant correlation was detected between the SNP rs1056836 and the maternal age and the pre-gestational BMI. None of the other analyzed variables showed a significant association with any of the other polymorphisms. Non direct association was detected between any of the analyzed polymorphisms and gestational age at birth. From the results obtained by this work, a possible relationship of the *CYP1B1* gene with the gestational age at birth can not be ruled out. Subsequent studies should analyze the possible association of these polymorphisms with gestational age at birth in other ethnic groups, as well as carry out

more extensive investigations including other genes and polymorphisms, as well as prematurity environmental risk factors.

Key words: Gestational age at birth. Preterm birth. CYP1B1. Pregnancy. Polymorphisms. Risk factors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do gene CYP1B1.....	25
Figura 2 – Esquema simplificado da ação de enzimas envolvidas na biossíntese e metabolismo do estrogênio.....	27
Figura 3 – Vias de hidroxilação do estrogênio nas posições 2-OH e 4-OH catalisadas por enzimas CYP450, a partir da estrona.....	28
Figura 4 - Resultado da PCR em tempo real do SNP rs10012 pelo ensaio <i>TaqMan</i> ® <i>Custom SNP Genotyping Assays</i> 40x, com C>G.	41

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Frequência genotípica do SNP rs10012 do gene <i>CYP1B1</i>	42
Gráfico 2 - Frequência genotípica do SNP rs1056827 do gene <i>CYP1B1</i>	42
Gráfico 3 - Frequência genotípica do SNP rs1056836 do gene <i>CYP1B1</i>	42
Gráfico 4 - Frequência alélica do SNP rs10012 do gene <i>CYP1B1</i>	43
Gráfico 5 - Frequência alélica do SNP rs1056827 do gene <i>CYP1B1</i>	43
Gráfico 6 - Frequência alélica do SNP rs1056836 do gene <i>CYP1B1</i>	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos polimorfismos variantes do gene <i>CYP1B1</i> selecionados para o estudo.....	36
Tabela 2 - Sequências de sondas VIC e FAM para os ensaios TaqMan® dos polimorfismos customizados.....	37
Tabela 3 - Características das gestantes e das crianças ao nascer na coorte do NISAMI (n=250), Bahia, Brasil, 2015	39
Tabela 4 – Frequências dos haplótipos dos códons 48 e 119, respectivamente, do gene <i>CYP1B1</i>	44
Tabela 5 - Resultados das análises estatísticas de associação entre os genótipos do SNP rs10012 e os aspectos clínicos e antropométricos da mãe e do bebê e hábitos da mãe.....	45
Tabela 6 - Resultados das análises estatísticas de associação entre os genótipos do SNP rs1056827 e os aspectos clínicos e antropométricos da mãe e do bebê e hábitos da mãe.....	46
Tabela 7 - Resultados das análises estatísticas de associação entre os genótipos do SNP rs1056836 e os aspectos clínicos e antropométricos da mãe e do bebê e hábitos da mãe.....	47
Tabela 8 - Resultado da análise epidemiológica da idade gestacional de nascimento.	48
Tabela 9 - Resultados das análises estatísticas de associação entre os SNPS rs10012, rs1056827 e 1056836 do gene <i>CYP1B1</i> e a idade gestacional de nascimento.	49
Tabela 10 - Análise da relação entre os haplótipos dos polimorfismos rs10012 e rs1056827 com a idade gestacional de nascimento.....	50
Tabela 11 – Resultados da comparação estatística entre as frequências genotípicas e alélicas do SNP rs10012 de diferentes populações de indivíduos saudáveis com as frequências da população do estudo atual.	52
Tabela 12 - Resultados da comparação estatística entre as frequências genotípicas e alélicas do SNP rs1056827 de diferentes populações de indivíduos saudáveis com as frequências da população do estudo atual.	53
Tabela 13 - Resultados da comparação estatística entre as frequências genotípicas e alélicas do SNP rs1056836 de diferentes populações de indivíduos saudáveis com as frequências da população do estudo atual.	54

LISTA DE SIGLAS

2-metoxi-E	2-metoxiestradiol
2-OH	2-hidroxi
2-OH-E2	2-hidroxiestradiol
4-OH	4-hidroxi
4-OH-E2	4-hidroxiestradiol
CO	Monóxido de carbono
CYP450	Citocromo P450 (do inglês <i>Cytochrome P450</i>)
DL	Desequilíbrio de Ligação
DHEA-S	Sulfato de dehidroepiandrosterona (do inglês <i>dehydroepiandrosterone sulfate</i>)
DUM	Data da última menstruação
E2	17 β -estradiol
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético (do inglês <i>Ethylenediamine Tetraacetic Acid</i>)
GST	Glutathione S-transferase
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês <i>Human Immunodeficiency Virus</i>)
IMC	Índice de Massa Corporal
MMP	Metaloproteinases de Matriz (do inglês <i>Matrix Metalloproteinases</i>)
NGHM	Núcleo de Genética Humana e Molecular
NISAMI	Núcleo de Investigação em Saúde Materno Infantil
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase (do inglês <i>Polymerase Chain Reaction</i>)
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio (do inglês <i>Reactive Oxygen Species</i>)

Sinasc	Sistema de Informações de Nascidos Vivos
SNP	Polimorfismo de Nucleotídeo Único (do inglês <i>Single Nucleotide Polymorphism</i>)
SUS	Sistema Único de Saúde
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo
VDRL	Pesquisa de laboratório de doenças venéreas (do inglês <i>Venereal Disease Research Laboratory</i>)
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular (do inglês <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>)
VIEP	Vigilância Epidemiológica

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	8
1.1.	Idade gestacional e prematuridade.....	8
1.2.	Fatores de risco.....	10
1.2.1.	<i>Etnia.....</i>	11
1.2.2.	<i>Peso materno.....</i>	12
1.2.3.	<i>Idade materna.....</i>	13
1.2.4.	<i>Estado nutricional.....</i>	15
1.2.5.	<i>Uso de álcool.....</i>	17
1.2.6.	<i>Tabagismo.....</i>	18
1.2.7.	<i>Fatores genéticos.....</i>	20
1.2.7.1.	<i>Gene CYP1B1.....</i>	23
2.	OBJETIVOS.....	30
2.1.	Objetivo geral.....	30
2.2.	Objetivos específicos.....	30
3.	METODOLOGIA.....	31
3.1.	Desenho de estudo.....	31
3.2.	População de estudo.....	31
3.3.	Coleta de dados.....	32
3.3.1.	<i>Primeira etapa da coleta de dados: período gestacional.....</i>	32
3.3.1.1.	<i>Coleta Sanguínea.....</i>	33
3.3.2.	<i>Segunda etapa da coleta de dados: período pós-parto.....</i>	34
3.4.	Análise molecular – Polimorfismos genéticos.....	35
3.4.1.	<i>Extração do DNA genômico.....</i>	35
3.4.2.	<i>Determinação da concentração e pureza das amostras de DNA.....</i>	35
3.4.3.	<i>Genotipagem.....</i>	36
3.5.	Análise estatística.....	38
4.	RESULTADOS.....	38
4.1.	Características das gestantes.....	38
4.2.	Frequências genótípicas e alélicas dos SNPs rs10012, rs1056827 e rs1056836 da população de gestantes do estudo.....	41
4.3.	Análise da associação entre os polimorfismos maternos e os aspectos clínicos e antropométricos da mãe e do bebê e hábitos da mãe.....	44
4.4.	Análise epidemiológica da Idade gestacional de nascimento.....	48
4.5.	Relação dos SNPs rs10012, rs1056827 e 1056836 e idade gestacional de nascimento.....	49

5.	DISCUSSÃO.....	50
5.1.	Frequências alélicas e genótípicas dos SNPs rs10012, rs1056827 e rs1056836 50	
5.2.	Associação das características clínicas e antropométricas maternas com a idade gestacional de nascimento	56
5.3.	Análise da relação dos SNPs rs10012, rs1056827 e 1056836 com características maternas e do bebê e com a idade gestacional de nascimento.....	61
6.	CONCLUSÕES.....	69
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXO 1.....		81
ANEXO 2.....		85
ANEXO 3.....		87

1. INTRODUÇÃO

1.1. Idade gestacional e prematuridade

Questões relacionadas à saúde reprodutiva, em especial as causas e fatores determinantes dos desfechos gestacionais e seu impacto na saúde e mortalidade infantil, constituem um problema de saúde pública mundial (ACCIOLY et al., 2002). Vários fatores podem afetar o crescimento fetal, a duração da gestação e, conseqüentemente, o peso ao nascer (DIRIX et al., 2009). Dentre os diversos desfechos gestacionais destaca-se a prematuridade, devido à sua influência negativa na mortalidade e morbidade infantil.

A idade gestacional é referida em semanas completas de gestação e determinada pela melhor estimativa clínica, a qual inclui ultrassonografia precoce e último período menstrual (BENTLEY et al., 2016). Essa medida é categorizada em gestação pré-termo ou prematura (33-36 semanas), gestação a termo inicial (37-38 semanas) e gestação a termo (39-42 semanas) (BENTLEY et al., 2016).

O parto prematuro (com menos de 37 semanas de gestação) acontece em aproximadamente 5% a 18% das gestações em todo o mundo, com mais de 60% de ocorrência na África e Sul da Ásia (BROWNFOOT et al., 2013). Isto resulta em cerca de 15 milhões de nascimentos prematuros a cada ano no mundo (KOULLALI et al., 2016). Em relação ao Brasil, para os anos de 2011 e 2012, foi estimado uma taxa de 11,5% de nascimentos prematuros, sem grandes diferenças entre regiões geográficas ou tipos de assistência médica no parto (pública ou privada), havendo um pequeno aumento nas capitais (LEAL et al., 2016). A prematuridade é considerada a maior causa de morte perinatal, morbidade e mortalidade neonatal e de doenças nos adultos (MUSTAFA et al., 2013af). Esse desfecho gestacional pode acarretar em atraso educacional, susceptibilidade para doenças respiratórias, danos neurológicos, déficits cognitivos e motores, entre outros problemas, tanto da fase infantil quanto na fase adulta (BUSTAMANTE et al., 2012; PARANJOTHY et al., 2013; GREAVES et al., 2014).

As taxas de nascimento prematuro têm aumentando em países industrializados ao longo das últimas décadas e, apesar de os níveis de sobrevivência de crianças nascidas de forma prematura terem melhorado, a porcentagem de crianças sobreviventes com prejuízos a longo prazo não caiu (ION E BERNAL, 2015). Da mesma forma, mesmo com a melhora significativa no cuidado com gestantes consideradas em risco e seus bebês, os custos médicos com nascimentos e partos prematuros permanecem consideráveis tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento (CHEN et al., 2016a).

Crianças que nascem de forma prematura precisam permanecer por longo período em um cuidado neonatal intensivo (CROWTHER et al., 2002). Cerca de 15% dos bebês que nascem de forma prematura morrem no primeiro mês de vida (LUO et al., 2012). Quanto mais prematuro é o bebê, maiores são os riscos de ele desenvolver alguma seqüela, principalmente quando o nascimento ocorre antes de 32 semanas (CROWTHER et al., 2002). Já foi demonstrado que entre 23 e 26 semanas completas de gestação cada dia prolongado de gravidez aumenta a taxa de sobrevivência em 3% (LAMONT, 2015).

Recentemente, um trabalho de revisão relatou que muitos estudos têm focado em partos prematuros com idade gestacional inferior a 32 semanas, havendo poucos dados de prematuridade tardia (34-36 semanas de gestação) (DAVIDOFF et al., 2006). Sabe-se atualmente que as taxas e números absolutos de nascimentos pré-termo tardio e a termo inicial (37-38 semanas) têm aumentado (GOLDENBERG et al., 2009). Cerca de dois terços dos nascimentos prematuros ocorrem no período considerado tardio (KRAMER, 2015). No Brasil, foi estimada uma taxa de 74% de nascimentos prematuros tardios para os anos de 2011 e 2012, dentre todos os nascimentos prematuros, e de 8,5% dentre todos os nascimentos (LEAL et al., 2016). Apesar de se considerar que crianças nascidas no final do período pré-termo estão em condições de “baixo risco”, pesquisas recentes têm relatado um aumento no risco de morbidade e mortalidade neonatal tanto para prematuridade tardia quanto para partos a termo inicial (BROWN et al., 2014). Já foi demonstrado que há um gradiente de risco inclusive em nascimentos acima de 37 semanas, indicando que crianças que nascem em gestações a termo inicial estão em maior risco de possuírem prejuízo no desenvolvimento e atraso educacional do que as que nascem em gestações a termo (39-41 semanas) (BOYLE et al., 2012). Além disso, também há relatos de que o risco de alguns desfechos gestacionais adversos, como baixos níveis de escolaridade, aumenta a cada semana reduzida em idade gestacional até 40 semanas, incluindo a categoria de parto a termo (PARANJOTHY et al., 2013).

O nascimento prematuro é frequentemente classificado em espontâneo ou por indicação médica, com o primeiro tipo correspondendo à maioria dos casos (75-85%) (LUO et al., 2012). O parto prematuro por indicação médica corresponde aos nascimentos precedidos por indução do parto ou cesariana antes do trabalho de parto (KRAMER, 2015). Diversas complicações maternas e fetais podem resultar na escolha por este tipo de nascimento pré-termo: placenta prévia, placenta acreta, deslocamento prematuro de placenta, situações que aumentam o risco de ruptura uterina (cesariana clássica e miomectomia prévias), algumas doenças como hipertensão e diabetes, restrição de crescimento fetal, malformações congênitas e gestações múltiplas (SPONG et al., 2011). A indicação médica para o nascimento pré-termo é responsável por grande parte do aumento dos níveis de prematuridade das últimas décadas (GOLDENBERG et al., 2009). Já o nascimento pré-termo espontâneo resulta do trabalho de parto ou ruptura das membranas de forma prematura naturalmente (CHEN et al., 2016a). Estudos prévios têm identificado uma longa lista de fatores de risco para o parto prematuro espontâneo, incluindo baixo nível socioeconômico, número de gestações, idade materna, uso abusivo de drogas, etnia, fumo materno ativo ou passivo, poluição do ar, infecção intrauterina e heterogeneidade genética (LUO et al., 2012). Apesar disso, as causas e mecanismos biológicos relacionados ao parto prematuro espontâneo ainda permanecem pouco claros e a etiologia de cerca de 40-50% dos casos de prematuridade permanece desconhecida (LUO et al., 2012; MUSTAFA et al., 2013a).

1.2. Fatores de risco

Evidências têm sugerido que o nascimento prematuro é uma desordem complexa, não havendo relação direta entre genótipos e fenótipos para sua causa (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Sua ocorrência depende de uma interação entre fatores de risco genéticos, epigenéticos e ambientais (PLUNKETT E MUGLIA, 2008).

Os principais fatores de risco ambientais para o parto prematuro incluem tabagismo, ingestão excessiva de álcool e uso de determinados medicamentos durante a gravidez (SMITH et al., 2015). Outros fatores de risco incluem etnia, peso materno, idade materna, estado nutricional materno e genética (PLUNKETT E MUGLIA, 2008; CYPHER, 2012; GERNAND et al., 2016; STANG E HUFFMAN, 2016). Os mecanismos biológicos pelos quais esses fatores podem resultar em parto prematuro ainda não foram completamente elucidados (SMITH et al., 2015). Entretanto, é plausível que o estresse físico e psicológico materno, conhecidos por terem associação com fatores de estilos de vida adversos, podem promover ativação neuroendócrina ou proinflamatória de vias em favor do parto (SMITH et al., 2015).

1.2.1. Etnia

Já foi observado que as etnias dos pais podem influenciar na idade gestacional (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Gravidezes geradas por mãe ou pai negros estão em maior risco de parto prematuro (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). A taxa de mortalidade infantil relacionada à prematuridade foi demonstrada ser 3 vezes maior para mulheres negras em comparação a mulheres brancas (MATHEWS et al., 2015).

Para tentar determinar as causas da influência da etnia na idade gestacional, muitos estudos têm focado em fatores como hábitos saudáveis maternos, cuidado pré-natal adequado, apoio social e estresse durante o período perinatal (ALHUSEN et al., 2016). Características sociodemográficas como status socioeconômico, estado civil e nível educacional, também têm sido analisadas para este fim (ALHUSEN et al., 2016). Entretanto, apesar da contribuição significativa de fatores de risco ambientais sobre as disparidades raciais, os efeitos genéticos desta variação no nascimento não devem ser descartados (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Isto porque 10-15% do total das variações genéticas humanas estão relacionadas às diferenças entre africanos subsaarianos, norte-europeus e asiáticos orientais (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). E, dentre tais variações

genéticas, aquelas que afetam os padrões de expressão gênica podem explicar as diferenças observadas nas taxas de nascimento prematuro (PLUNKETT E MUGLIA, 2008).

1.2.2. Peso materno

Tanto gestantes com baixo peso quanto as obesas possuem risco aumentado para a ocorrência de parto prematuro (REQUEJO et al., 2013). De acordo com o artigo de revisão de Stang e Huffman (2016), já foi relatada uma associação entre a obesidade pré-gestacional e o aumento da ocorrência de parto prematuro tanto espontâneo quanto por indicação médica. Algumas evidências sugerem ainda que esta relação pode seguir um gradiente de obesidade, ou seja, quanto maior a classe do IMC, maior o risco de ocorrência de parto pré-termo (STANG E HUFFMAN, 2016). Apesar desses relatos, a relação da obesidade com a ocorrência de parto prematuro ainda não é muito clara (PAN et al., 2016). De acordo com Pan et al. (2016), enquanto o baixo peso antes da gravidez aumenta a chance de prematuridade de forma significativa, a obesidade causa este mesmo efeito, mas de uma forma mais leve.

A classificação do Índice de Massa Corporal (IMC) pré-gestacional difere da classificação do IMC normal para uma pessoa adulta. No segundo caso, a classificação é: abaixo do peso: $<18,5 \text{ Kg/m}^2$; saudável: $18,5 \text{ a } <25 \text{ Kg/m}^2$; sobrepeso: $25 \text{ a } 30 \text{ Kg/m}^2$; obesidade: $>30 \text{ Kg/m}^2$ (ACOG, 2013). Para as gestantes, as categoria de IMC pré-gestacional são: $19,8 \text{ Kg/m}^2$; saudável: $19,8 \text{ a } 26 \text{ Kg/m}^2$; sobrepeso: $>26 \text{ a } 29 \text{ Kg/m}^2$; obesidade: $>29 \text{ Kg/m}^2$ (IOM, 1990).

A possível relação entre o parto prematuro e a obesidade pré-gestacional pode ser explicada por dois importantes mecanismos potenciais (PAN et al., 2016). Em primeiro lugar, a obesidade é um fator de risco bem estabelecido para desordens metabólicas como diabetes mellitus e hipertensão (PAN et al., 2016). Ambos os casos podem levar ao aumento dos níveis de resistência à insulina e resultar em estresse materno-fetal e indicação médica de parto prematuro (STANG E HUFFMAN, 2016). Em segundo lugar,

essas duas doenças podem causar um aumento na resposta inflamatória secundária à obesidade, podendo predispor as mulheres ao parto prematuro espontâneo (STANG E HUFFMAN, 2016). Segundo Pan et al. (2016), há um aumento no nível de citocinas pró-inflamatórias na circulação particularmente em mulheres gestantes obesas.

Diferentemente da obesidade, a associação entre baixo IMC materno e a ocorrência de parto prematuro tem se mostrado bastante consistente pela literatura (PAN et al., 2016). Isto pode ser explicado, de forma direta, pela carência de nutrientes ingeridos pela gestante, que resulta na diminuição do crescimento fetal ou da duração da gestação, ou indiretamente pela associação com outros fatores de risco como tabagismo, má alimentação ou doença (HAN et al., 2011). Em países desenvolvidos principalmente, mulheres abaixo do peso costumam fazer o uso do cigarro (HAN et al., 2011). Já nos países em desenvolvimento, geralmente, mulheres com baixo peso costumam estar inseridas nas classes socioeconômicas mais baixas que estão envolvidas em trabalho manual intenso ou terem predisposição étnica ou genética para tal condição (HAN et al., 2011). Apesar dos relatos e evidências, estudos recentes ressaltam a complexidade do papel da nutrição no desencadeamento de tal desfecho gestacional (REQUEJO et al., 2013).

1.2.3. Idade materna

A taxa de prematuridade pode variar de acordo com a idade materna, sendo maior entre mães mais jovens e de idade mais avançada (FERRÉ et al., 2016). Uma em cada 4 ou 5 adolescentes com menos de 15 anos de idade e mulheres com mais de 45 anos estão em maior risco de apresentarem parto prematuro (CYPHER, 2012). Por outro lado, essa taxa diminui para 1 a cada 9 mulheres em idade entre 25 a 34 anos (CYPHER, 2012). Comparando com nascimentos a termo, nascimentos prematuros espontâneos tendem a ser mais frequentes em mães adolescentes, possivelmente por estarem relacionadas a situações de maior vulnerabilidade social (LEAL et al., 2016). Além do crescimento corporal incompleto, mães adolescentes gestantes geralmente recebem cuidado pré-

natal inadequado (TABET et al., 2017). O papel da infecção em partos prematuros espontâneos ressalta a importância do cuidado pré-natal de qualidade, principalmente entre mães adolescentes consideradas um grupo vulnerável (LEAL et al., 2016).

Na última década houve um aumento de mulheres gestantes de idade avançada (com 35 anos ou mais) em todo o mundo, especialmente no Mundo Ocidental (CAKMAK CELIK et al., 2016). A priorização da educação e carreira, problemas econômicos, dificuldades nas condições de trabalho e uso de métodos contraceptivos eficientes estão entre os fatores que levaram a esta tendência de postergar a gravidez (CAKMAK CELIK et al., 2016). Gestantes em idade avançada, que geralmente encontram-se em níveis mais altos de emprego formal, escolaridade e renda, estão em maior risco de ocorrência de parto prematuro por indicação médica (LEAL et al., 2016). Para estas mulheres, que costumam receber assistência médica de natureza privada no parto, qualquer condição de risco potencial torna-se motivo para a realização de uma cesariana (LEAL et al., 2016). Esse tipo de parto corresponde quase que à totalidade dos casos de nascimento pré-termo no Brasil, mesmo diante dos esforços do governo para tentar evitá-lo (LEAL et al., 2016). Waldenstrom et al. (2016) relatou influência da pré-eclâmpsia na taxa de prematuridade por indicação médica para este grupo de mulheres, estando associada com distúrbios vasculares e diminuição do fluxo sanguíneo útero-placentário; de lesões vasculares placentárias e miometriais e da deficiência de progesterona, hormônio importante para a manutenção da gravidez. A gestação em idade avançada está relacionada também à hipertensão, diabetes mellitus, placenta prévia, descolamento placentário, baixo peso ao nascer, restrição de crescimento fetal, macrosomia e mortalidade perinatal (CAKMAK CELIK et al., 2016). Estes problemas costumam ser mais evidentes em idades maternas avançadas (CAKMAK CELIK et al., 2016).

A heterogeneidade dos fatores de risco para a prematuridade relacionados a mães adolescentes e de idade avançada sugere a necessidade de diferentes estratégias de prevenção de gestação pré-termo ao longo da vida reprodutiva (FERRÉ et al., 2016).

1.2.4. Estado nutricional

O estado nutricional da mulher exerce uma importante influência sobre os resultados da gravidez e saúde do feto e neonato (KOMINIAREK E RAJAN, 2016). Uma dieta diversificada e equilibrada desde o período pré-concepcional é essencial para garantir o bem-estar materno e resultados obstétricos favoráveis (MARANGONI et al., 2016). Micronutrientes sustentam a saúde materna e fetal durante a gestação por meio de processos que estão integrados ao longo dos compartimentos maternos, placentários e fetais (GERNAND et al., 2016). Como a gravidez é um período de aumento de demanda metabólica, o fornecimento insuficiente de vitaminas essenciais e micronutrientes podem levar a um estado biológico de competição entre a mãe e o feto (ARDALIĆ et al., 2014).

Dietas saudáveis, ricas em frutas, vegetais, grãos e peixes têm demonstrado diminuir o risco de ocorrência de parto prematuro (CHIA et al., 2016; MARANGONI et al., 2016). Possivelmente, isto está relacionado à alta ingestão de componentes como folato, fibras, vitamina A, fitoquímicos e antioxidantes, que estão contidos em alimentos como frutas e vegetais (MARTIN et al., 2015; CHIA et al., 2016). Estes componentes estão relacionados à redução da inflamação, podendo reduzir o risco de ruptura prematura de membranas placentárias e promover o crescimento fetal (MARTIN et al., 2015; CHIA et al., 2016).

A dieta ocidental (ou estilo mediterrâneo), por sua vez, caracterizada pelo alto consumo de alimentos como carnes fritas e processadas, carne vermelha, hambúrguer, batata frita, sorvete, entre outros, tem sido associada com um aumento no risco de ocorrência de parto prematuro (CHIA et al., 2016). Neste tipo de dieta há uma alta ingestão de gorduras saturadas, que são consideradas marcadores pró-inflamatórios (MARTIN et al., 2015). Segundo Martin et al. (2015), tais componentes podem promover a ocorrência de parto prematuro por favorecerem a inflamação, limitando a transferência de nutrientes em quantidades suficientes para o crescimento fetal adequado. A prematuridade também pode ser favorecida na dieta ocidental pela ingestão reduzida de antioxidantes, o que pode contribuir para o estresse oxidativo (ARDALIĆ et al., 2014). Em acréscimo, a formação placentária provoca estresse oxidativo, exigindo modulação por nutrientes antioxidantes (GERNAND et al., 2016). Os agentes antioxidantes da placenta requerem micronutrientes e são os responsáveis na proteção do embrião e da

placenta (GERNAND et al., 2016). Uma atividade antioxidante insuficiente tem sido associada a reduções na vascularização placentária, potencialmente limitando o fluxo de sangue para o feto, o que pode resultar em hipóxia, isquemia, pré-eclâmpsia e crescimento fetal reduzido (GERNAND et al., 2016). De acordo com a literatura, o tipo de dieta possui uma associação mais consistente com o parto prematuro espontâneo (CHIA et al., 2016).

Nos países de alta renda, há pouca deficiência clínica de micronutrientes durante a gravidez, o que tem sido atribuído à diversidade alimentar, ao aconselhamento alimentar durante a gestação, ao consumo generalizado de alimentos enriquecidos e à utilização de suplementos pré-natais de micronutrientes (GERNAND et al., 2016). No entanto, as deficiências leves permanecem e, na sociedade moderna, a inadequação dietética de micronutrientes pode estar emergindo com o aumento do consumo de alimentos altamente processados e de *fast foods*, que são ricos em gordura e açúcar e não possuem os nutrientes requeridos para uma dieta balanceada saudável (GERNAND et al., 2016; PERKINS E VANDERLELIE, 2016).

As necessidades nutricionais de uma mulher durante a gravidez são significativamente diferentes das necessidades de mulheres não grávidas (KOMINIAREK E RAJAN, 2016). Além disso, estas necessidades podem variar de acordo com fatores como: a facilidade de acesso ao alimento, status socioeconômico, etnia, hábitos alimentares culturais e IMC, sendo necessário um aconselhamento nutricional individualizado (KOMINIAREK E RAJAN, 2016). Para este aconselhamento também deve-se levar em conta a presença de possíveis complicações gestacionais, como a diabetes, para que sejam feitos os ajustes necessários para cada caso (HAN et al., 2011).

As recomendações de ingestão de micronutrientes são determinadas pela avaliação das necessidades nutricionais fisiológicas normais para sustentar uma gravidez saudável (GERNAND et al., 2016). Estes requisitos podem ser determinados, em parte, pela dieta e estado nutricional da mulher antes da gravidez, bem como por fatores ambientais causadores de estresse que podem levar à inflamação dos tecidos do corpo e, portanto, esgotar ou desviar o uso dos micronutrientes (GERNAND et al., 2016). Desta forma, as recomendações para a gravidez muitas vezes são extrapolações a partir de estimativas de requerimentos nutricionais para adultos ou adolescentes, ajustados para considerar o acúmulo de nutrientes fetais, demandas maternas adicionais para sustentar a deposição tecidual e o metabolismo e mudanças na eficiência de absorção

de nutrientes que podem ocorrer durante a gravidez (GERNAND et al., 2016). As recomendações podem ser adaptadas a cada país, devido a diferenças alimentares, culturais e ambientais (GERNAND et al., 2016). Como resultado, mesmo com recomendações cada vez mais baseadas em evidências e com a crescente quantidade de estudos que visam explicar o impacto da dieta materna na ocorrência do parto prematuro, a interpretação prática e confiável de recomendações na ingestão dietética de micronutrientes continua a ser um desafio global (GERNAND et al., 2016).

1.2.5. Uso de álcool

O consumo de álcool durante a gravidez é um problema social significativo que pode estar associado a nascimentos pré-termos (SBRANA et al., 2016). A maioria das autoridades de saúde pública e médicos aconselham total abstinência de álcool tanto durante quanto antes da gravidez, quando há planejamento prévio (DALE et al., 2016). Este conselho deve-se principalmente ao princípio da precaução, já que evidências sobre uma dose limiar segura são inconclusivas (DALE et al., 2016). Além disso, a relação entre o consumo de álcool durante a gestação e os desfechos gestacionais adversos ainda são controversos (SBRANA et al., 2016). De forma geral, existem poucos estudos que indicam efeitos adversos para baixos níveis de álcool ingeridos, enquanto que há um amplo consenso na literatura que o uso abusivo de bebida alcoólica possui efeitos teratogênicos, como o risco de síndrome alcoólica fetal, restrição no crescimento, defeitos no nascimento e problemas de desenvolvimento neurais (DALE et al., 2016).

A possibilidade de a ingestão de álcool aumentar o risco de ocorrência de parto prematuro tem sido uma preocupação atual (DALE et al., 2016). Alguns estudos têm relatado pequena vantagem sobre o risco de parto prematuro para baixos níveis de consumo de álcool (menos de 4 doses por semana) quando comparado a ausência de consumo (DALE et al., 2016). De acordo com uma revisão sistemática e meta-análise recente de Patra et al. (2011), apenas o consumo excessivo, 1,5 drink por dia ou mais, o que equivale a aproximadamente mais de 18g de álcool, aumenta o risco de parto prematuro, enquanto níveis menores estão associados ao risco reduzido ou ausente. Em comparação com gestantes que consumiam menos de 1 drink (cerca de 12g ou

15mL de álcool) por semana, Kesmodel et al. (2000) observaram uma diminuição de 3-4 dias na idade gestacional de mulheres que consumiam 10 ou mais *drinks* por semana. Da mesma forma, foi observado um aumento em dias na idade gestacional de mulheres que faziam o uso de 1-2 drinks por semana (KESMODEL et al., 2000). De acordo com Lundsberg et al. (2015), a ação protetora do consumo baixo a moderado de álcool pelas gestantes pode ser atribuída ao “estilo de vida saudável”, no qual estas mulheres tendem usar multivitamínicos, praticar exercício físico e ter IMC pré-gestacional normal. Isto pode estar relacionado a uma maior preocupação com a saúde por estas mulheres, que também tendem a ter maior nível educacional e melhor relacionamento social (DALE et al., 2016). Entretanto, ainda não é possível afirmar que esta tendência seja real, ou se é resultante do efeito de fatores de confusão, que podem incluir história médica materna e fatores obstétricos (LUNDSBERG et al., 2015).

Tem sido relatado que 20-65% das mulheres consomem álcool em algum momento da gestação e que 5-10% consomem níveis suficientes para causarem risco ao feto (SBRANA et al., 2016). Também há uma diferença significativa no que se refere aos efeitos de consumo de bebida alcoólica materna sobre o feto, de acordo com o período gestacional no qual ocorreu a exposição, indicando a existência de períodos críticos, inclusive para baixos níveis de álcool ingeridos (SBRANA et al., 2016). Não há diferença no nível de risco entre os diferentes tipos de bebidas alcoólicas (cerveja, vinho e aguardente) (SBRANA et al., 2016).

1.2.6. Tabagismo

O uso de tabaco durante a gravidez representa um dos fatores de risco tóxicos mais estudados e bem estabelecidos para diversos desfechos gestacionais (BURRIS et al., 2016). Dentre estes desfechos adversos pode-se citar a prematuridade, baixo peso do bebê ao nascer, mortalidade neonatal, doenças respiratórias na infância e desenvolvimento anormal do sistema nervoso (VYHLIDAL et al., 2013). Em relação à prematuridade, o cigarro é conhecido por aumentar o risco de parto prematuro tanto

espontâneo quanto por indicação médica, havendo uma associação mais forte com o primeiro tipo (ION E BERNAL, 2015). O risco de parto prematuro está diretamente relacionado com o número de cigarros tragados por dia (KOULLALI et al., 2016).

Os mecanismos que relacionam o fumo do tabaco com prematuridade permanecem pouco compreendidos e aparentemente multifatoriais (WAGIJO et al., 2015). Muitos casos de nascimentos pré-termo associados com fumo durante a gravidez são mediados por restrição de crescimento intrauterino (WAGIJO et al., 2015). Em mulheres grávidas, a nicotina e o monóxido de carbono (CO), componentes do cigarro, podem causar danos tanto para a mãe quanto para o feto, já que atravessam a barreira da placenta (ARDALIĆ et al., 2014). Tanto a nicotina quanto o CO são potentes vasoconstritores (ION E BERNAL, 2015). Artérias umbilicais de mulheres que fumam mostram mudanças vasculares microscópicas, incluindo inchaço em células endoteliais irregulares e edema subendotelial extenso (ION E BERNAL, 2015). O uso do cigarro também pode aumentar o risco de prematuridade de forma indireta por meio da diminuição do apetite materno e possuir efeito tóxico diretamente sobre o metabolismo do feto (ION E BERNAL, 2015). O aumento dos níveis de CO reduz as taxas de oxigênio transportado pela hemoglobina aos tecidos, uma vez que a hemoglobina se associa ao CO formando a carboxihemoglobina e causando hipóxia fetal (WAGIJO et al., 2015). Os níveis fetais e neonatais de carboxihemoglobina são geralmente mais elevados do que as concentrações maternas, devido à alta afinidade da hemoglobina fetal por CO (ION E BERNAL, 2015).

A nicotina diminui o fluxo sanguíneo uterino (WAGIJO et al., 2015). Suas concentrações nas veias umbilicais são cerca de 15% maiores do que no soro materno e estudos têm relatado que os tecidos da placenta concentram nicotina (ION E BERNAL, 2015). Estudos no macaco rhesus demonstraram que a administração materna de nicotina causa hipóxia fetal e diminuição no pH sanguíneo do feto (SUZUKI et al., 1980).

O uso do cigarro predispõe à infecção intrauterina, insuficiência cervical e ruptura prematura de membranas placentárias, todas consideradas causas chave para o parto prematuro espontâneo (WAGIJO et al., 2015). Além disso, já é bem estabelecido que o fumo do tabaco pode contribuir para o estresse oxidativo (ARDALIĆ et al., 2014). Um aumento na produção de F2-isoprostanos (isômeros da prostaglandina F2 alfa), um marcador para estresse oxidativo, tem sido relatado nas membranas fetais e no fluido amniótico de mulheres fumantes, quando comparado a mulheres não fumantes (ION E

BERNAL, 2015). Estresse oxidativo e redução na capacidade antioxidante, redução nos níveis de progesterona, aumento na sensibilidade à ocitocina e produção de prostaglandina podem, em adição, promover contratilidade uterina e induzir o parto prematuro em fumantes (WAGJO et al., 2015).

Foi estimado que cerca de 14% dos casos de prematuridade estão relacionados ao uso ativo do cigarro durante a gestação (LUO et al., 2012). Há relatos de que esta associação é mais forte em casos de prematuridade severa (com idade gestacional inferior a 32 semanas) do que prematuridade moderada (acima de 32 semanas) (KOULLALI et al., 2016). Apesar disso, apenas uma pequena proporção das gestações de mulheres fumantes passam por um nascimento prematuro, o que pode ser explicado pela variabilidade significativa na suscetibilidade genética entre os indivíduos (LUO et al., 2012).

Trabalhos anteriores já detectaram que polimorfismos de genes relacionados ao estresse oxidativo, como Citocromo P4501A1 e Glutathione S-transferase (GST), são capazes de alterar a relação entre o fumo materno ativo e passivo e a prematuridade (LUO et al., 2012). Isto se deve à capacidade de detoxificação das proteínas produzidas a partir destes genes, de forma que as variantes polimórficas nos genes *CYP* podem levar a um aumento na toxicidade, enquanto que os polimorfismos nos genes *GST* podem prejudicar a capacidade de desintoxicação (MUSTAFA et al., 2013af). Desta forma, uma possível diminuição na atividade destes genes pode aumentar a quantidade de componentes tóxicos e/ou metabólitos intermediários no organismo (LUO et al., 2012). O acúmulo destas substâncias, por sua vez, pode aumentar o risco de parto prematuro associado ao uso do cigarro (LUO et al., 2012).

1.2.7. Fatores genéticos

Muitas evidências sugerem que fatores genéticos estão fortemente associados à idade gestacional de nascimento (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Um fato interessante a esse

respeito é a recorrência da idade gestacional em diferentes gestações em uma mesma mulher, tanto para nascimentos pré-termo quanto para pós-termo (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Desta forma, mulheres que dão à luz prematuramente possuem um maior risco de terem parto prematuro em gravidezes subsequentes, risco esse até 2 vezes maior, aumentando de modo diretamente proporcional ao número de ocorrências desse desfecho gestacional (CYPHER, 2012; MUSTAFA et al., 2013a). Da mesma forma, mulheres que nasceram de forma prematura e que possuem irmãs que já deram à luz prematuramente são mais propensas a nascimentos pré-termo (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Tem sido proposto que existe uma predisposição genética tanto materna quanto fetal para a ocorrência de parto prematuro, sendo os fatores maternos mais importantes do que os fetais (BUSTAMANTE et al., 2012; MUSTAFA et al., 2013a). A contribuição da hereditariedade para o momento do nascimento foi estimada em 34% (KISTKA et al., 2008).

A variação genética resulta de dois processos importantes: mutação e recombinação (GRIFFTHS et al., 2008). A mutação é considerada a fonte primária de variação e refere-se a uma mudança de nucleotídeos na sequência de DNA (GRIFFTHS et al., 2008). Essa alteração inclui desde uma simples troca de um par de bases até o desaparecimento de um cromossomo inteiro (GRIFFTHS et al., 2008). A recombinação gera novas combinações alélicas por meio de trocas de fragmentos entre cromossomos homólogos (GRIFFTHS et al., 2008). Mutações podem ocorrer de forma espontânea, através de erros na replicação ou no reparo do DNA, ou de forma induzida, pela ação radiação ou substâncias químicas, por exemplo (GRIFFTHS et al., 2008). Já a recombinação ocorre durante a meiose na gametogênese (GRIFFTHS et al., 2008).

Variações no DNA com frequência maior do que 1% deixam de ser consideradas mutações e passam a ser chamadas de polimorfismos (BALASUBRAMANIAN et al., 2004). Estes podem estar presentes em todas as regiões do genoma humano (intergênicas, codificantes, regulatórias e intrônicas) (BALASUBRAMANIAN et al., 2004). A grande maioria dos polimorfismos é funcionalmente neutra, não influenciando na estrutura ou função da proteína (BALASUBRAMANIAN et al., 2004). Alguns, entretanto, podem alterar o código genético de forma a afetar a transcrição gênica (quando presentes em regiões promotoras ou regulatórias), estabilidade do RNA mensageiro (quando presentes em regiões 3' não traduzidas), *splicing* do RNA (quando próximas a junções íntron-éxon) ou alterar a função ou estrutura da proteína (quando localizados nas regiões de éxons)

(BALASUBRAMANIAN et al., 2004). Identificar essas variações e avaliar seu significado possui importância para a pesquisa científica atual (BALASUBRAMANIAN et al., 2004).

Os polimorfismos podem ocorrer em diferentes formas: polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), polimorfismos de inserção/deleção ou números variados de repetições em tandem (micro e mini-satélites) (BALASUBRAMANIAN et al., 2004). Os SNPs, como o próprio nome diz, são alterações genéticas que envolvem a substituição de um único par de bases na sequência de DNA (BALASUBRAMANIAN et al., 2004). Esse polimorfismo representa o tipo mais frequente de variação genética entre indivíduos, podendo ocorrer na frequência de 1% a 50% dentro de uma população (KÖBERLE et al., 2016). Os SNPs geralmente são bialélicos, ou seja, apresentam apenas dois alelos, que são definidos pela presença de nucleotídeos alternativos em posições específicas do DNA (BALASUBRAMANIAN et al., 2004). Os alelos mais frequentes geralmente são conhecidos como alelos selvagens, enquanto aqueles de frequências mais raras são chamados de alelos variantes (BALASUBRAMANIAN et al., 2004). SNPs não conservativos presentes em regiões codificantes possuem alto potencial de serem clinicamente significativos (BALASUBRAMANIAN et al., 2004). Mudanças para um aminoácido estrutural e funcionalmente diferente podem não só influenciar a estrutura e função da proteína, como também (se localizado em um domínio proteico chave) interferir nas interações ou atividades proteína-proteína (BALASUBRAMANIAN et al., 2004). Isto, por sua vez, pode prejudicar vias metabólicas importantes (BALASUBRAMANIAN et al., 2004). SNPs são úteis devido à alta frequência com que ocorrem e por serem passíveis de serem analisados por tecnologia de genotipagem de alto rendimento (BALASUBRAMANIAN et al., 2004).

Estudar a genética da idade gestacional é importante para identificar marcadores capazes de prever com precisão a ocorrência de parto prematuro e auxiliar na predição obtida pelos fatores de risco atualmente conhecidos (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Fatores genéticos são estáveis e, portanto, podem ser bons preditores de risco (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Além disso, a genética pode permitir a identificação de novas proteínas e/ou vias envolvidas na prematuridade (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Assim, estudos genéticos podem auxiliar no melhor entendimento do papel dos fatores relacionados ao parto prematuro e na descoberta de novos alvos para drogas terapêuticas (PLUNKETT E MUGLIA, 2008; MUSTAFA et al., 2013af).

Estudos anteriores relataram que polimorfismos relacionados a genes envolvidos no estresse oxidativo e na metabolização de xenobióticos estão fortemente associados ao parto prematuro (MUSTAFA et al., 2013a). O estresse oxidativo é um desbalanço entre a manifestação sistêmica de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a habilidade dos sistemas antioxidantes de prontamente detoxificarem os intermediários reativos (ARDALIĆ et al., 2014). Uma gravidez saudável é caracterizada por um balanço estável entre ROS e antioxidantes (MENON, 2014). O desequilíbrio redox é uma característica patológica subjacente de muitas complicações gestacionais (MENON, 2014). Esse desequilíbrio, que pode resultar da produção excessiva de superóxido, peróxido de hidrogênio, íons hidroxila e óxido nítrico, pode causar danos à matriz de colágeno e consumir as defesas antioxidantes (MENON, 2014). Tais eventos, por sua vez, podem desencadear contrações uterinas (trabalho de parto), levando à ocorrência do parto prematuro (MENON, 2014).

1.2.7.1. *Gene CYP1B1*

Enzimas da família do Citocromo P450 (CYP450) estão entre os biocatalizadores mais versáteis conhecidos até o momento (LABAS et al., 2016). Estas enzimas compartilham um grupo heme-cisteinato, que ativa o oxigênio molecular por meio ciclos catalíticos complexos (LABAS et al., 2016). As enzimas do CYP450 são as mais importantes no processo de detoxificação no organismo humano, contribuindo com o metabolismo de cerca de 80-90% das drogas (LABAS et al., 2016). Na maioria dos casos, estas enzimas aumentam a solubilidade dos xenobióticos de forma a facilitar sua secreção e reduzir sua toxicidade (LABAS et al., 2016). Entretanto, em alguns casos, componentes podem ser bioativados a substâncias nocivas, o que tem sido bastante explorado no caso de agentes anticancerígenos, por exemplo (LABAS et al., 2016).

As enzimas do CYP450 também são capazes de bioativar componentes endógenos, tendo o estrógeno como principal exemplo (LABAS et al., 2016). Neste sentido, as enzimas desta família possuem participação no ciclo estral das mulheres e também têm

influência na vasodilatação, manutenção da densidade óssea e auxilia ações neuroprotetoras (LABAS et al., 2016).

O metabolismo de xenobióticos é o processo de detoxificação de componentes exógenos e endógenos e ocorre em duas fases (PEDDIREDDY et al., 2016). Na fase I (bioativação), as enzimas oxidases do CYP450 adicionam um grupo polar ou reativo aos xenobióticos, convertendo-os a metabólitos intermediários (LUO et al., 2012; PEDDIREDDY et al., 2016). Na fase II (detoxificação), os xenobióticos modificados são conjugados com componentes polares, como a glutathiona, pela ação de enzimas como a GST (LUO et al., 2012; PEDDIREDDY et al., 2016). O balanço entre as enzimas das fases I e II é crucial para determinar a quantidade de intermediários reativos que são formados dentro de uma célula (PEDDIREDDY et al., 2016).

O gene *CYP1B1* (Citocromo P450, família 1, subfamília B, polipeptídeo 1), um membro da família do CYP450, está localizado na região 2p21-22 e é formado por três éxons, um dos quais é não-codificante, e dois íntrons (**Figura 1**) (MUSTAFA et al., 2013a). *CYP1B1* é expresso constitutivamente em tecidos esteroideogênicos tais como útero, mama, ovário, testículo, próstata e a glândula supra-renal (MUSTAFA et al., 2013a). *CYP1B1*, proteína codificada pelo gene *CYP1B1*, tem sido identificada como uma das enzimas mais importantes responsáveis pela ativação metabólica de poluentes ambientais (xenobióticos), como os hidrocarbonetos poliaromáticos (MUSTAFA et al., 2013a). Além disso, essa enzima oxida uma variedade de moléculas endógenas, como o retinol, ácido aracdônico, melatonina e esteroides, particularmente o 17 β -estradiol (E2) (NISHIDA et al., 2013). Desta forma, desempenha um papel de sinalização, ação hormonal e desenvolvimento dos bebês (NISHIDA et al., 2013).

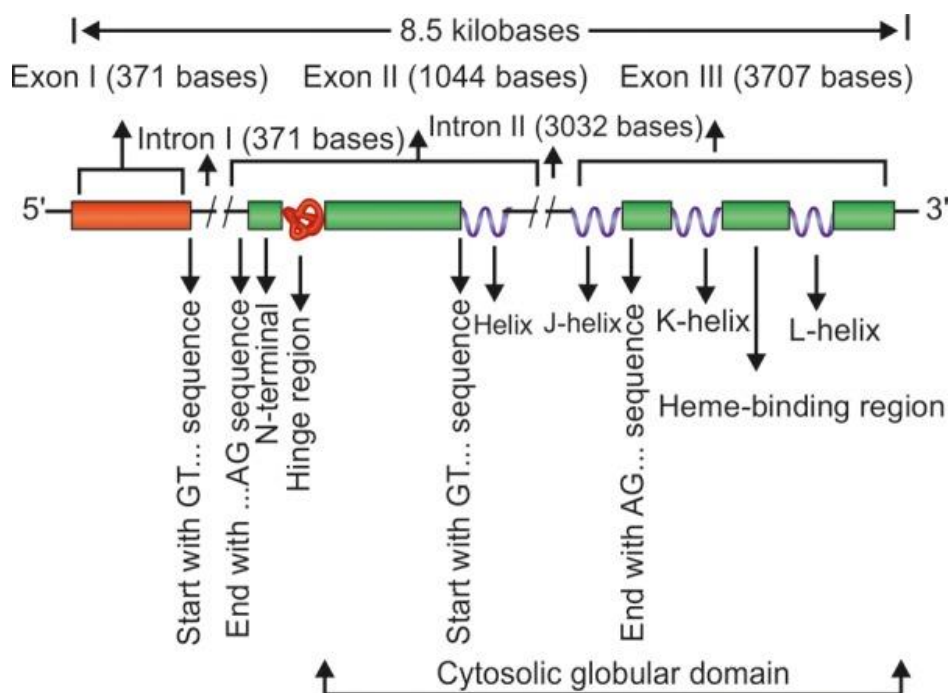


Figura 1 - Representação esquemática do gene *CYP1B1*. Fonte: (FAIQ et al., 2013).

CYP1B1 desempenha um papel importante na síntese de estrogênio, um dos hormônios mais importantes na manutenção da gravidez (MUSTAFA et al., 2013a). Os tipos de estrogênio mais importantes são o E2, a estrona e o estriol (FERNANDES et al., 2002). O E2 é o mais potente dos três, estando em equilíbrio com a estrona na circulação (FERNANDES et al., 2002). A estrona é metabolizada em estriol, que é o menos potente dos três (FERNANDES et al., 2002). Na mulher, os estrogênios são produzidos principalmente pela teca interna e granulosa dos folículos ovarianos, pelo corpo amarelo e placenta (FERNANDES et al., 2002). O córtex da suprarrenal também contribui com a produção destes hormônios, mas em pequenas quantidades (FERNANDES et al., 2002).

A placenta torna-se o principal órgão de produção de estrogênio quando ocorre a regressão do corpo amarelo, depois das primeiras 5 semanas de gravidez (FERNANDES et al., 2002). Neste período, há um aumento de cerca de 100 vezes na concentração plasmática deste hormônio em relação aos níveis do início da gravidez (FERNANDES et al., 2002). A placenta também acumula grandes quantidades de progesterona, de forma que a razão estrogênio/progesterona passa de 100:1, no início da gravidez, para aproximadamente 1, no período a termo (FERNANDES et al., 2002). O estrogênio estimula o crescimento contínuo do miométrio, de forma a prepara-lo para o parto (FERNANDES et al., 2002).

Não se sabe ao certo qual é o fator responsável pelo início das contrações do trabalho de parto, entretanto, os estímulos responsáveis pelo processo são conhecidos (FERNANDES et al., 2002). Uma das hipóteses mais aceitas para o início do parto considera a ativação do córtex da suprarrenal fetal, com o eixo hipotálamo-hipófise-suprarrenal determinando o momento do início (FERNANDES et al., 2002). Os corticosteróides provenientes da suprarrenal fetal estimulam a placenta a converter progesterona em estrogênio (FERNANDES et al., 2002). Isto é importante, pois, enquanto a progesterona inibe a atividade contrátil do miométrio, o estrogênio estimula o processo (FERNANDES et al., 2002).

A glândula suprarrenal fetal produz cortisol e contém sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEA-S) (FERNANDES et al., 2002). Quando o DHEA-S é fornecido à placenta, o mesmo é convertido em estrogênio (sobretudo estriol) que, por sua vez, estimula a produção de receptores para oxitocina e prostaglandinas e de junções gap entre as células miométriais do útero (FERNANDES et al., 2002). Com isso, o miométrio torna-se mais sensível às prostaglandinas e oxitocina, que são responsáveis por desencadear as contrações uterinas e a expulsão do feto (FERNANDES et al., 2002). Ao mesmo tempo, as junções gap atuam na sincronização e coordenação dessas contrações (FERNANDES et al., 2002).

Além da enzima CYP1B1, pelo menos outras 3 isoformas (CYP1A1, CYP1A2 e CYP3A4) também participam da metabolização do estrogênio, levando à produção de vários produtos (LABAS et al., 2016). A proteína CYP1B1 compartilha 37% de sua sequência com CYP1A1 e aproximadamente a mesma quantidade com CYP1A2 (NISHIDA et al., 2013). As rotas metabólicas mais frequentes no metabolismo do estrogênio são a 2-hidroxilação (hidroxilação do E2 na posição 2-hidroxi - 2-OH) e 4-hidroxilação (hidroxilação do E2 na posição 4-hidroxi - 4-OH) (LABAS et al., 2016). CYP1B1 está envolvida primariamente na hidroxilação do E2 nas posições 2-OH e 4-OH e subsequente oxidação para semiquinonas e quinonas (MUSTAFA et al., 2013a). Entretanto, em contraste à CYP1A1, CYP1B1 humana oxida preferencialmente o E2 a 4-hidroxiestradiol (4-OH-E2), em vez do derivado 2-hidroxiestradiol (2-OH-E2) (**Figura 2**) (NISHIDA et al., 2013). As possíveis explicações para esta diferença são a orientação diferente do estradiol dentro dos dois sítios ativos e a diferença de reatividade intrínseca entre os sítios do substrato (LABAS et al., 2016).

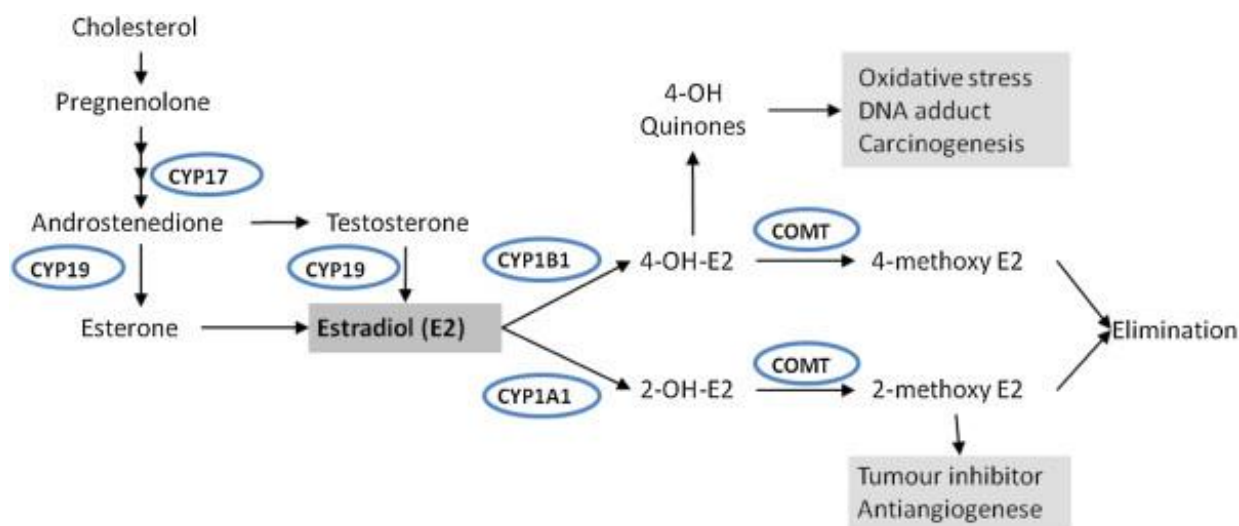


Figura 2 – Esquema simplificado da ação de enzimas envolvidas na biossíntese e metabolismo do estrogênio. O E2 pode ser convertido aos catecolesteróis hidroxilados 2-OH-E2 e 4-OH-E2 por CYP1A1 e CYP1B1, respectivamente. Estes catecolesteróis podem ser eliminados através da via de metilação catalisada pela COMT. Alternativamente, o 4-OH-E2 pode ser oxidado na semiquinona, que pode sofrer conversão não enzimática para o seu radical superóxido gerador de quinona. E2: 17 β -estradiol; 2-OH-E2: 2-hidroxiestradiol; 4-OH-E2: 4-hidroxiestradiol; COMT: catecol-O-metil transferase. Fonte: (GHISARI et al., 2014).

A hidroxilação na posição 2-OH é considerada uma via benigna, uma vez que os 2-OH-E2 produzidos são rapidamente metilados, produzindo 2-metoxiestradiol (2-metoxi-E), considerado não carcinogênico. Em contraste, a 4-hidroxilação produz 3,4-catecols que podem ser facilmente oxidados por peroxidases para produzir 3,4-semiquinonas e 3,4-quinonas (**Figura 3**), as quais podem demonstrar um papel importante na carcinogênese pela indução de danos ao DNA, mutação e depuração (MITSUI et al., 2015). Além disso, tanto as semiquinonas quanto as quinonas também são metabólitos reativos que podem danificar o DNA pela formação de adutos e introdução de mutações no genoma (MUSTAFA et al., 2013a).

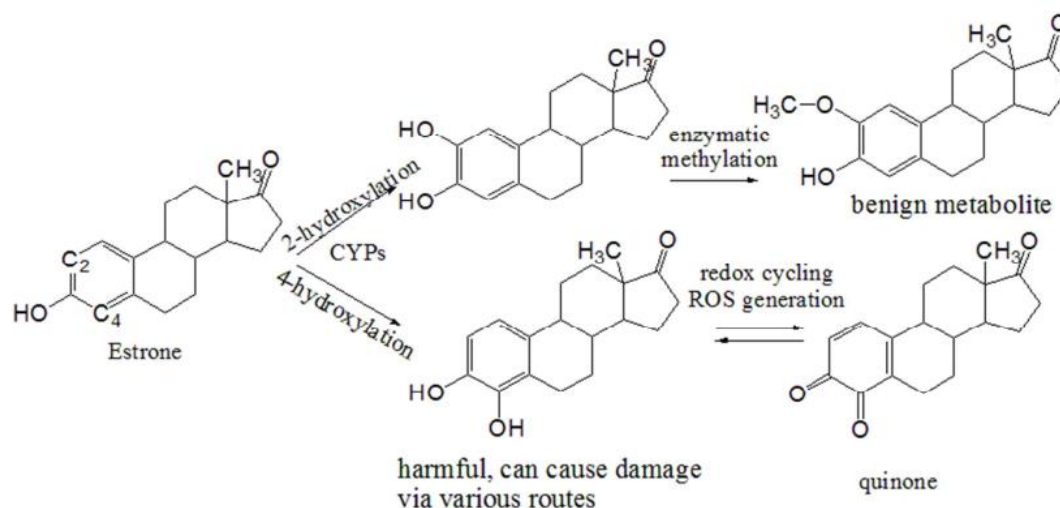


Figura 3 – Vias de hidroxilação do estrogênio nas posições 2-OH e 4-OH catalisadas por enzimas CYP450, a partir da estrona. O composto 3,4-catecol produzido facilmente auto-oxida a quinonas. O ciclo redox entre quinonas e catecols, por sua vez, produz espécies reativas de oxigênio (ROS). Fonte: (LABAS et al., 2017).

Apesar de *CYP1B1* ser expresso em condições normais de saúde, uma expressão muito maior desse gene tem sido frequentemente observada em diversas malignidades (MITSUI et al., 2015). O metabólito de estrogênio 4-OH-E2 pode sofrer ciclos redox para gerar radicais livres potencialmente mutagênicos que aumentam o estresse oxidativo (MUSTAFA et al., 2013a). Alto estresse oxidativo pode causar danos a macromoléculas como lípidos, proteínas e DNA (MUSTAFA et al., 2013a). Estes danos, por sua vez, podem ser associados com risco de parto prematuro e retardo de crescimento intrauterino (MUSTAFA et al., 2013a).

Polimorfismos genéticos em *CYP1B1* são conhecidos por serem a base das variações na atividade das enzimas metabolizadoras de drogas frequentemente observadas em diferentes populações étnicas (MUSTAFA et al., 2013a). Já foram relatados mais de 50 SNPs para o gene *CYP1B1* em humanos (CHEN et al., 2016c). Destes, cinco conduzem a substituições de aminoácidos, sendo 4 deles considerados os mais frequentes (MUSTAFA et al., 2013a; CHEN et al., 2016c).

Já foi relatado que os polimorfismos Ala119Ser (rs1056827), localizado no exon 2, e Leu432Val (rs1056836), localizado no exon 3, resultam na produção de enzimas com atividade de 2-4 vezes maior do que a enzima selvagem (MUSTAFA et al., 2013a). Da mesma forma, para o polimorfismo Arg48Gln (rs10012), tem sido relatado que variantes Arg48 (exon 2) geralmente possuem uma preferência modestamente maior para

geração do produto 4-OH-E2, do que para geração de 2-OH-E2, quando comparadas a variantes Gli48 (NISHIDA et al., 2013).

Ainda não se sabe ao certo o mecanismo pelo qual a alteração da atividade destas enzimas pode influenciar no risco de ocorrência de parto prematuro (MUSTAFA et al., 2013a). Uma hipótese é de que um aumento da atividade de hidroxilação de algumas variantes do gene *CYP1B1*, em relação ao tipo selvagem, pode intensificar a formação de 4-OH-E2 e a bioativação de xenobióticos como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e as aminas aromáticas heterocíclicas (MUSTAFA et al., 2013a). A formação de 4-OH-E2 está relacionada a um fator etiológico primário para o parto prematuro, o estresse oxidativo (SUSSAN et al., 2017). O aumento na quantidade EROs pode resultar em um comprometimento na placenta e à geração de gravidezes patológicas (BANU et al., 2016). Relatos da literatura mostraram níveis significativamente elevados de marcadores de estresse oxidativo no sangue de cordão umbilical de recém-nascidos pré-termo em relação a bebês com nascimento a termo, incluindo a formação de adutos de DNA e carbonilação de proteínas (SUSSAN et al., 2017). Vários destes marcadores, por sua vez, mostraram correlação negativa com a idade gestacional do recém-nascido (SUSSAN et al., 2017).

Além do estresse oxidativo, a possível influência da enzima *CYP1B1* com a idade gestacional de nascimento pode estar relacionada também à sua ação na metabolização do estrogênio, devido à importância deste hormônio na gravidez e, principalmente, no desencadeamento do trabalho de parto (FERNANDES et al., 2002). Desta forma, uma alteração na atividade desta enzima poderia tornar-se um fator de risco para o parto prematuro devido às propriedades mutagênicas e estrogênicas deste gene (MUSTAFA et al., 2013a).

Atualmente, apenas um trabalho relacionou tais polimorfismos do gene *CYP1B1* com a idade gestacional de nascimento. Mustafa et al. (2013a) analisou uma possível associação de 5 polimorfismos deste gene em uma população do norte de Índia, observando uma influência significativa dos polimorfismos rs10012, rs1056827 e rs1056836 com a ocorrência de parto prematuro.

O presente trabalho tem como objetivo investigar, em gestantes do Município de Santo Antônio de Jesus, a possível influência desses polimorfismos do gene *CYP1B1*, de dados clínicos e de hábitos de vida maternos na idade gestacional de nascimento. A identificação de uma possível associação poderia auxiliar no desenvolvimento de uma

técnica de triagem de risco mais precisa a partir da genotipagem e personalização dos cuidados às gestantes no período pré-natal.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Analisar a influência dos polimorfismos rs10012, rs1056827 e rs1056836 do gene *CYP1B1* materno, de dados clínicos e de hábitos de vida maternos com a idade gestacional.

2.2. Objetivos específicos

- Descrever as características da população de gestantes do estudo;
- Determinar a frequência dos polimorfismos rs10012, rs1056827, rs1056836 na população estudada;
- Correlacionar os polimorfismos maternos com a idade gestacional de nascimento;
- Investigar a influência de aspectos clínicos, antropométricos e hábitos da mãe na idade gestacional de nascimento;
- Investigar uma possível relação entre os polimorfismos maternos e os aspectos clínicos e antropométricos da mãe e do bebê e hábitos da mãe.

3. METODOLOGIA

3.1. Desenho de estudo

Foi realizado um delineamento de coorte prospectivo de 272 gestantes participantes do Núcleo de Investigação em Saúde Materno Infantil (NISAMI), formado a partir de mulheres gestantes inscritas no serviço pré-natal em Unidades Básicas de Saúde do Sistema Único de Saúde (SUS), no Estado da Bahia. As mães foram acompanhadas durante a gestação, parto e período pós-parto (puerpério) entre os anos de 2013 e 2016. O município de estudo, Santo Antônio de Jesus, está localizado no Recôncavo Sul Baiano, com área territorial de 261 Km², distando 187 Km da cidade de Salvador, capital do Estado da Bahia. Esta cidade conta com 90.949 habitantes, 79.271 residentes na zona urbana, 11.6763 na zona rural, distribuídos em 47.963 mulheres e 42.986 homens.

3.2. População de estudo

A população de estudo foi constituída por mulheres clinicamente saudáveis, residentes e domiciliadas na zona urbana, com dezoito anos ou mais de idade, que se encontravam com idade gestacional de 16 a 32 semanas no momento da primeira entrevista. Foram excluídas as mulheres com gestação múltipla, com problemas de saúde, como pré-eclâmpsia, problemas renais e infecção por Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV).

Participaram do estudo apenas as gestantes que concluíram a primeira etapa da coleta de dados, realizada durante a gestação, e que aceitaram realizar a coleta sanguínea.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, número do parecer 241.225 de 09/04/2013 (**ANEXO 1**). Todas as participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (**ANEXO 2**).

3.3. Coleta de dados

Os dados foram coletados em duas etapas: durante a gestação e após o parto. Na primeira etapa foram realizadas entrevistas por ocasião das consultas de pré-natal por entrevistadores treinados na rede de atenção básica de saúde. Na etapa pós parto, foram coletados dados a respeito do parto, condições físicas e de saúde da mãe e do recém-nascido.

3.3.1. Primeira etapa da coleta de dados: período gestacional

A primeira etapa foi realizada através de visitas das gestantes aos serviços de pré-natal, no período de agosto de 2013 a dezembro de 2014, onde foram entrevistadas utilizando-se um questionário padronizado (**ANEXO 3**).

Dentre as informações obtidas no questionário encontravam-se a idade materna, renda familiar, escolaridade materna, cor da pele, situação conjugal, situação de trabalho, sexo da criança, idade gestacional no momento da coleta sanguínea, início do pré-natal no primeiro trimestre, dados sobre orientações nutricionais nas consultas de pré-natal e dados sobre hábitos e estilo de vida, como: ingestão de bebida alcoólica e tabagismo durante a gestação.

Para fins de inclusão no estudo, a idade gestacional das gestantes foi calculada com a data da última menstruação (DUM), considerando o primeiro dia da última menstruação como início da gestação ou por meio do registro da primeira ultrassonografia realizada até o final do primeiro trimestre gestacional (antes da 20ª semana). Por definição, a idade gestacional é baseada em um ciclo menstrual ideal, com a ovulação/fertilização no 14º dia e, portanto, com mais duas semanas que a idade embriológica (MATIAS et al., 2002).

O peso pré-gestacional foi coletado do cartão da gestante e, quando não disponível, foi referido pela mesma. A altura materna foi aferida na unidade de saúde segundo as recomendações de Lohman et al. (1988). Tanto o peso quanto a altura foram aferidos em triplicata segundo protocolos recomendados por Jelliffe (1968). O IMC foi obtido por meio da fórmula: $\text{peso}/\text{altura}^2$, utilizando-se as médias dos valores de peso e altura. Para a estimativa do peso, foi utilizada balança eletrônica portátil da marca Marte® (Marte Científica, São Paulo, Brasil), modelo LC200PS, com capacidade de 200 kg e sensibilidade de 0,05 kg, e para a estatura o estadiômetro portátil da marca Sanny® (Sanny, São Paulo, Brasil), fixado à parede, com capacidade de 210 cm e precisão de 0,1cm.

As informações ligadas aos antecedentes obstétricos foram levantadas a partir dos prontuários clínicos dos serviços de pré-natal.

3.3.1.1. Coleta Sanguínea

Foram coletados 8 mililitros (mL) de sangue venoso periférico em tubos à vácuo tipo Vacutainer® com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) como anticoagulante. Os tubos foram centrifugados a 2500 rpm por 15 minutos, em ambiente protegido da luz, para separação do soro. O *buffy coat*, utilizado na extração do DNA genômico, foi coletado por meio de pipetagem e refrigerado (0 a 5°C) até o momento das análises,

respeitando prazo máximo de 72h de armazenamento. As amostras sorológicas foram identificadas por códigos e armazenadas a -32°C em freezer.

3.3.2. Segunda etapa da coleta de dados: período pós-parto

Na segunda etapa de coleta de dados foram realizadas visitas às puérperas em domicílio ou na maternidade municipal de Santo Antônio de Jesus, onde estavam internadas, no período de setembro de 2013 a setembro de 2015. A partir dos prontuários clínicos foram obtidas as informações referentes ao recém-nascido (perinatal). Os dados das crianças ao nascer foram coletados no departamento de Vigilância Epidemiológica (VIEP) da Secretaria Municipal de Saúde da cidade em que o estudo foi realizado. Com uso de questionário aplicado à puerpéria, foram obtidos o estado de saúde e dados nutricionais. As informações sobre os partos foram obtidas a partir do livro de registro da enfermagem dos centros obstétricos. Em paralelo, os registros do Sistema de Informações de Nascidos Vivos (Sinasc) foram rastreados de forma a encontrar e entrevistar em casa as mães das crianças nascidas fora do hospital municipal. Visitas domiciliares foram realizadas ao final do estudo para aquelas gestantes cujos dados dos desfechos gestacionais não foram encontrados no VIEP.

Por meio do peso do bebê ao nascer (g) e da data de nascimento das crianças foi feito o cálculo da duração da gestação. Foram considerados prematuros recém-nascidos com idade gestacional < 37 semanas. A idade ginecológica da mãe foi determinada a partir da diferença entre a idade cronológica (idade desde o seu nascimento) e a idade da menarca (primeira menstruação).

3.4. Análise molecular – Polimorfismos genéticos

3.4.1. Extração do DNA genômico

As amostras de sangue foram encaminhadas ao Laboratório de Imunopatologia e Genética da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia onde o DNA genômico foi extraído de 0,5 mL do *buffy coat* anteriormente congelado na presença de 1 mL de tampão de Lise 1 (Tris-HCl 0,01M, Sacarose 0,36M, MgCl₂ 5mM, Triton – X 1%). Utilizou-se o kit de extração da Qiagen®, FlexiGene® DNA Kit (Quiagen, São Paulo, Brasil), de acordo com a metodologia recomendada pelo fabricante. Após extração do DNA, as amostras foram acondicionadas a -20°C até o momento da genotipagem.

3.4.2. Determinação da concentração e pureza das amostras de DNA

Após extração do DNA genômico, as etapas subsequentes de análise molecular foram realizadas no Núcleo de Genética Humana e Molecular (NGHM) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Vitória, ES. A determinação da concentração e da pureza do DNA genômico foram realizadas no Thermo Scientific NanoDrop™ 2000 Micro-volume Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Delaware, EUA).

3.4.3. Genotipagem

Sabe-se que, dentre os polimorfismos já relatados para o gene *CYP1B1*, cinco conduzem a substituições de aminoácidos (MUSTAFA et al., 2013a; CHEN et al., 2016c). Dentro deste grupo, 3 polimorfismos foram selecionados para este estudo, devido às maiores frequências de ocorrência observadas e por já haver relato da possível relação desses polimorfismos com a idade gestacional (MUSTAFA et al., 2013a). Os polimorfismos analisados por este trabalho são: rs10012 (Arg48Gli), rs1056827 (Ala119Ser) e rs1056836 (Leu432Val), e estão detalhados na (Tabela 1).

Tabela 1 - Características dos polimorfismos variantes do gene *CYP1B1* selecionados para o estudo.

SNP	Alteração alélica	Tipo de mutação	Posição no cromossomo (pb)	Localização no RNAm	Alteração na proteína
rs10012	C→G	Substituição por transversão	38075247	545	Arg48Gli
rs1056827	G→T		38075034	758	Ala119Ser
rs1056836	C→G		38071060	1697	Leu432Val

Para genotipagem, foram preparadas alíquotas de DNA genômico com concentração de 30 ng/μL, a partir da diluição com água ultrapura das amostras concentradas. A genotipagem dos SNPs foi realizada por PCR em Tempo Real, utilizando ensaios TaqMan® (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA).

Cada reação de PCR em Tempo Real continha os seguintes reagentes: 7,5 μL de TaqMan® Master Mix 2x (solução contendo a enzima TaqDNA Polimerase, deoxinucleotídeos e tampão com MgCl₂), 0,375 μL de TaqMan® Custom SNP Genotyping Assays 40x ou TaqMan® Drug Metabolism Enzyme Genotyping Assay 20x (solução de *primers* e sondas pré-desenhados e validados), 6,125 μL de água ultrapura e 1,0 μL de amostra (30ng de DNA), atingindo-se um volume final de 15 μL. O Master Mix, *primers* e sondas foram fornecidos pela Thermo Fisher Scientific, Delaware, EUA.

O ensaio TaqMan® para genotipagem do SNP rs1056836 (TaqMan® Drug Metabolism Enzyme Genotyping Assay 20x) foi encomendada da Thermo Fisher Scientific, Delaware, EUA. Os ensaios TaqMan® para genotipagem dos SNPs rs10012 e

rs1056827 foram customizados (TaqMan® Custom SNP Genotyping Assays 40x) por meio da ferramenta online no site da empresa fornecedora e continha as sequências de *primers* e sondas descritas na **Tabela 2**.

Tabela 2 - Sequências de sondas VIC e FAM para os ensaios TaqMan® dos polimorfismos customizados.

SNP	Primers	Sondas
rs10012	F - 5' CAGTGGCCACGCAAACG 3'	VIC - 5' CAGCTCGGGTCCGC-NFQ 3'
	R - 5' GCTGCTGAGGCAACGGA 3'	FAM - 5' CAGCTCCGGTCCGC-NFQ 3'
rs1056827	F - 5' GGACACCACACGGAAGGA 3'	VIC - 5' ACCGGCCGGCCTT-NFQ 3'
	R - 5' AGGGCTCGGCCTTCG 3'	FAM - 5' ACCGGCCGTCCTT-NFQ 3'

Todas as reações de PCR em Tempo Real foram realizadas no equipamento Applied Biosystems® 7500 Fast Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific, Delaware, EUA). As condições de termociclagem para cada reação de PCR em Tempo Real foram indicadas pelo fabricante dos ensaios TaqMan®, sendo as seguintes: 95°C por 10 minutos (Manter/Hold- ativação enzimática); 40 ciclos de 95°C por 15 segundos (desnaturação) e 60 °C por 60 segundos (anelamento/extensão) para sonda (40x) - TaqMan® Custom SNP Genotyping Assays ou 50 ciclos de 95°C por 15 segundos (desnaturação) e 60°C por 90 segundos (anelamento/extensão) para sonda (20x) - TaqMan® Drug Metabolism Enzyme Genotyping Assay. O controle de qualidade do padrão de genotipagem incluiu controles negativos e positivos em cada rotor. Para cada reação, foi utilizado um controle negativo contendo 1 µL água ultrapura no lugar da amostra de DNA. Também foram utilizados três controles positivos com amostras previamente genotipadas, sendo um para cada genótipo.

3.5. Análise estatística

As análises foram realizadas no programa Stata/IC for Mac (StataCorp, College Station, Texas, EUA), versão 14.0. A análise estatística para a associação de frequências genóticas e alélicas foi realizada pelo Teste de Exato Fisher com o programa GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, Califórnia, EUA). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. O desequilíbrio de ligação (DL) foi calculado para os SNPs rs10012 e rs1056827 através da equação: $D_{ab} = (\pi_{AB} - \pi_A\pi_B)$, onde D_{ab} é o coeficiente de desequilíbrio entre os polimorfismos A e B, π_{AB} é a frequência do genótipo AB e π_A e π_B são as frequências dos alelos A e B, respectivamente (FLINT-GARCIA et al., 2003).

As variáveis de exposição são representadas pelas condições sociodemográficas, biológicas e de atenção à saúde; incluindo a idade materna [≤ 24 anos (0), 25 a 29 (1), ≥ 30 anos (2)], cor de pele [branca (0); parda (1), negra (2)], sexo da criança [feminino (1), masculino (2)]. Foram adotadas ainda aquelas variáveis relacionadas aos hábitos e estilo de vida, como: ingestão de bebida alcoólica na gestação [sim (1), não (2)], tabagismo durante a gestação [sim (1), não (2)]. Idade, IMC pré-gestacional e número de gestações foram utilizadas como variáveis concomitantes contínuas.

4. RESULTADOS

4.1. Características das gestantes

Duzentas e setenta e duas gestantes compareceram ao laboratório para coleta sanguínea. Entretanto, foram excluídas da caracterização 19 gestantes que não responderam ou responderam de forma incompleta o questionário sociodemográfico.

Três gestantes deixaram o estudo após abortarem. A amostra final de caracterização foi composta por 250 gestantes. Estas mulheres foram caracterizadas quanto à idade, peso, estatura, IMC, IMC pré-gestacional, etnia, tabagismo, etilismo e número de gestações. Em relação aos bebês, foram coletados dados sobre sexo, idade gestacional e peso ao nascer.

A média de idade obtida na população de gestantes analisada pelo estudo foi de 26,75 anos, com a maioria tendo idade menor ou igual a 24 anos (94/250) ou maior ou igual a 30 anos (92/250). A média de peso observada foi de 67,17 Kg e de estatura foi 1,61 m. O IMC pré-gestacional médio estava na faixa saudável, sendo de 24,17 Kg/m². De fato, a maioria das gestantes (56%) encontravam-se entre os valores de IMC pré-gestacional de 19,8 Kg/m² e 26 Kg/m² (140/250), sendo 16,4% (41/250) consideradas abaixo do peso (<19,8 Kg/m²), 9,6% (24/250) com sobrepeso (>26 Kg/m² a 29 Kg/m²) e 18% (45/250) na faixa da obesidade (>29 Kg/m²). O IMC teve como média o valor de 26,07 Kg/m², que está incluído na faixa de sobrepeso. A maioria das gestantes autorrelataram-se pardas (110/250) ou negras (105/250), não tabagistas (235/250) e etilistas (189/250). O número médio de gestações por gestante foi de 0,96, sendo que 107 (42,8%) estavam na primigesta, 82 (32,8%) na segunda gestação e 61 (24,4%) na terceira. Em relação aos bebês nascidos, 134 (53,6%) eram do sexo masculino. A idade gestacional de nascimento média foi de 38,6 semanas (período a termo inicial). Entretanto, o número predominante de nascimentos estava incluído no período a termo (39 a 42 semanas), com um total de 152 (60,8%). O peso médio dos bebês ao nascerem foi de 3324,06 g. Todos os dados estão detalhados na **Tabela 3**.

Tabela 3 - Características das gestantes e das crianças ao nascer na coorte do NISAMI (n=250), Bahia, Brasil, 2015

Variável	Valor
<u>Características Maternas:</u>	
-Idade (anos)	
Média	26,75±5,97
≤24	94 (37,6%)
25-29	64 (25,6%)
≥30	92 (36,8%)
-Peso (Kg)	67,17 ± 12,82
-Estatura (m)	1,61 ± 0,06
-IMC (Kg/m ²)	26,07 ± 5,01
	Continua...

...continuação.

-IMC pré-gestacional (Kg/m ²)	Média	24,17±4,9
	Abaixo do peso (<19,8)	41 (16,4%)
	Saudável (19,8 a 26)	140 (56%)
	Sobrepeso (>26 a 29)	24 (9,6%)
	Obesidade (>29)	45 (18%)
-Etnia	Branca	35 (14%)
	Negra	105 (42%)
	Parda	110 (44%)
-Tabagismo	Sim	15 (6%)
	Não	235 (94%)
-Etilismo	Sim	189 (75,6%)
	Não	61 (24,4%)
-Número de gestações	Média	0,96 ± 1,14
	Primigesta (0)	107 (42,8%)
	1	82 (32,8%)
	2	61 (24,4%)
<u>Características do bebê ao nascer:</u>		
-Sexo	Feminino	116 (46,4%)
	Masculino	134 (53,6%)
-Idade gestacional (semanas)	Média	38,6±1,96
	Pré-termo (<37)	33 (13,2%)
	A termo inicial (37-38)	65 (26%)
	A termo (39-42)	152 (60,8%)
-Peso (g)		3324,06±494,6

4.2. Frequências genóticas e alélicas dos SNPs rs10012, rs1056827 e rs1056836 da população de gestantes do estudo

O resultado de amplificação observado na ferramenta “*Amplification Plot*” para uma das reações está ilustrado na **Figura 4**.

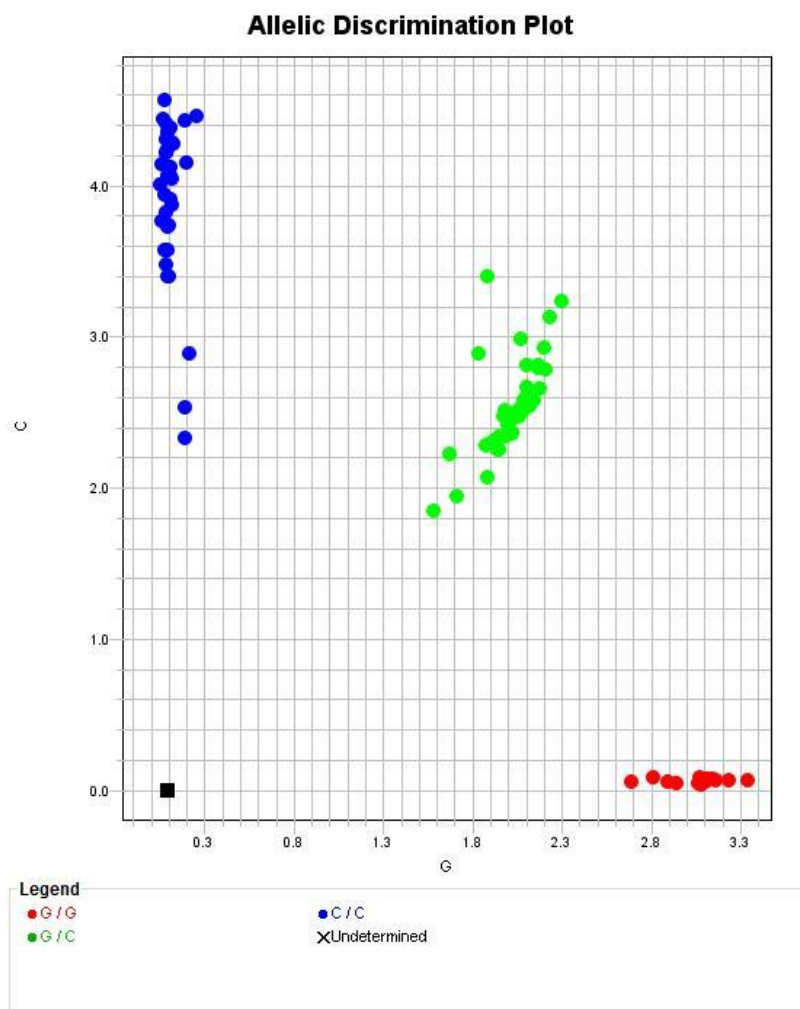


Figura 4 - Resultado da PCR em tempo real do SNP rs10012 pelo ensaio *TaqMan® Custom SNP Genotyping Assays 40x*, com C>G. Pontos azuis – genótipo CC; pontos verdes – genótipo CG; pontos vermelhos – genótipo GG; quadrado preto – controle negativo.

Foram analisadas um total de 272 gestantes para cada um dos SNPs selecionados. Para o SNP rs10012 foram genotipadas amostras de 270 gestantes apenas, pois, duas amostras não obtiveram resultados satisfatórios de amplificação.

Em relação ao SNP rs10012, foi obtida uma frequência de 39,26% (106/270) para o genótipo homocigoto selvagem CC, 46,3% (125/270) para o genótipo heterocigoto CG

e 14,44% (39/270) para o genótipo homozigoto variante GG (**Gráfico 7**). A maioria das gestantes possuíam o genótipo homozigoto selvagem (GG) para o SNP rs1056827, resultando em uma frequência de 38,6% (105/272). Os demais genótipos, heterozigoto (GT) e homozigoto variante (TT), representaram um número de 127 (46,69%) e 40 (14,71%), respectivamente, dentro população de 272 gestantes (**Gráfico 8**). Em relação ao SNP rs1056836, 35,66% (97/272) das gestantes apresentam o genótipo CC (homozigoto selvagem), 51,47% (140/272) o genótipo CG (heterozigoto) e 12,87% (35/272) possuem o genótipo GG (homozigoto para o alelo variante) (**Gráfico 9**).

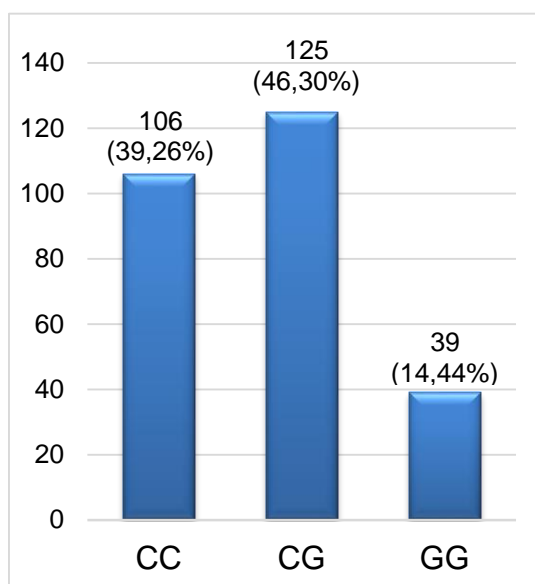


Gráfico 7 - Frequência genotípica do SNP rs10012 do gene *CYP1B1*.

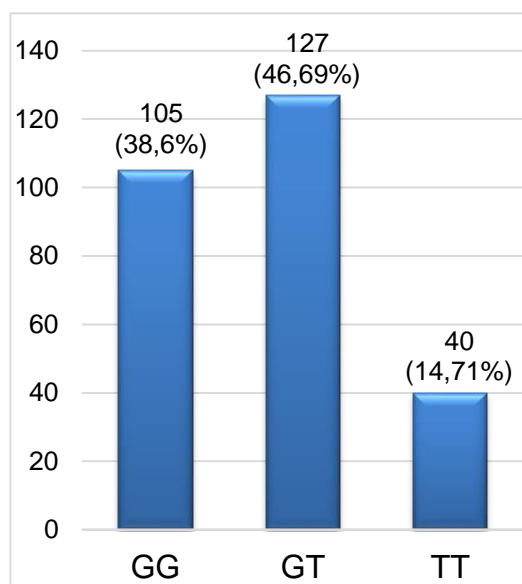


Gráfico 8 - Frequência genotípica do SNP rs1056827 do gene *CYP1B1*.

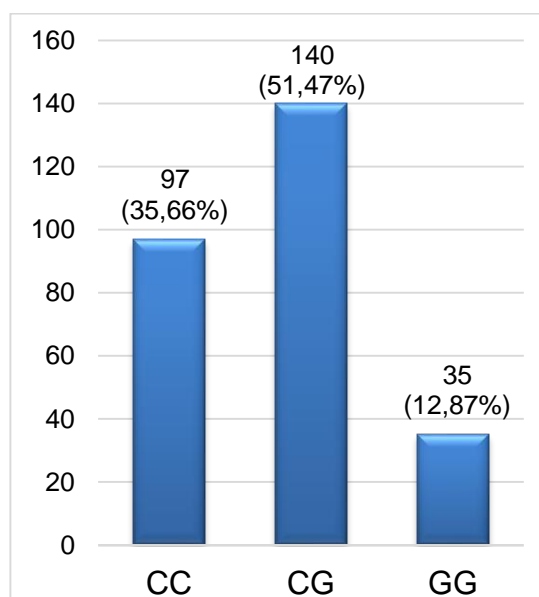


Gráfico 9 - Frequência genotípica do SNP rs1056836 do gene *CYP1B1*.

O alelo selvagem (C) do SNP rs10012 do gene *CYP1B1* apresentou uma frequência de 62,41% (337/540) dentro da população de estudo. Já o alelo variante (G) representou 203 do total de 540 alelos (37,59%) para esse SNP para esse mesmo SNP (**Gráfico 10**). As frequências dos alelos selvagem (G) e variante (T) do SNP rs1056827 foram de 61,95% (337/544) e 38,05% (207/544), respectivamente (**Gráfico 11**). Para o SNP rs1056836, do total de 544 alelos, 334 (61,40%) constituíam o alelo selvagem (C) e 210 o alelo variante (38,60%) (G) (**Gráfico 12**).

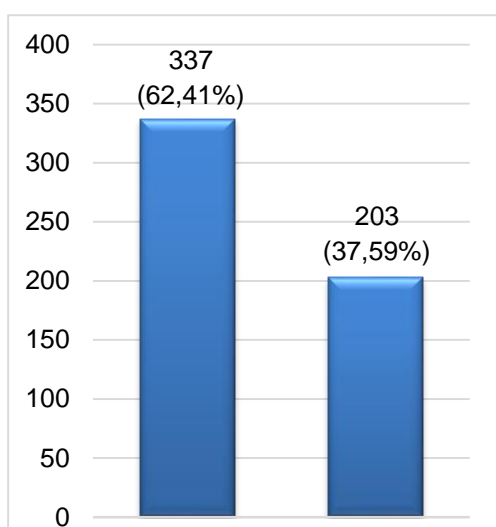


Gráfico 10 - Frequência alélica do SNP rs10012 do gene *CYP1B1*.

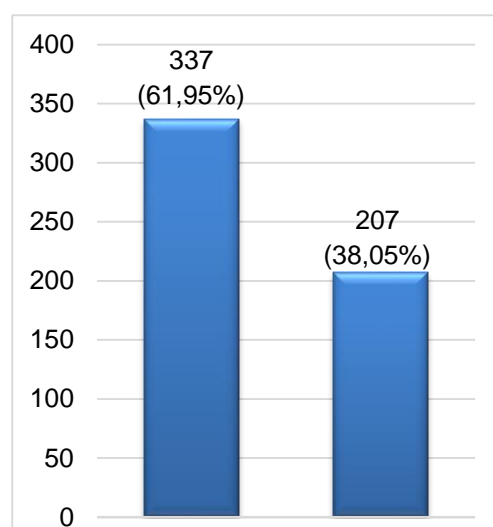


Gráfico 11 - Frequência alélica do SNP rs1056827 do gene *CYP1B1*.

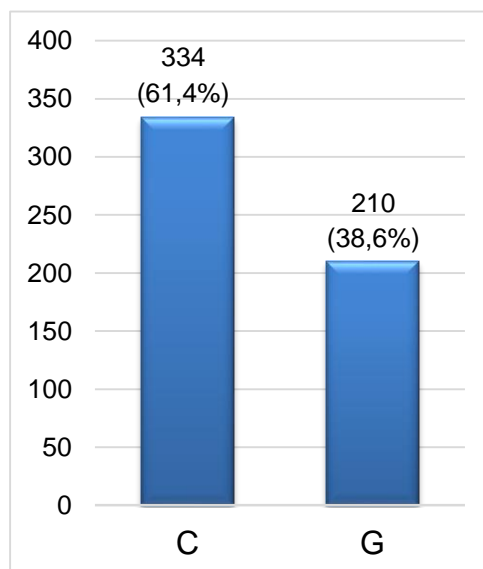


Gráfico 12 - Frequência alélica do SNP rs1056836 do gene *CYP1B1*.

A população do estudo encontra-se em Equilíbrio de Hardy-Weinberg para todos os polimorfismos analisados. Foi observado um DL entre os loci dos polimorfismos rs10012 e rs1056827, com um valor de D estimado de 0,23. As frequências dos haplótipos e os valores de D estão descritos na **Tabela 4**.

Tabela 4 – Frequências dos haplótipos dos códons 48 e 119, respectivamente, do gene *CYP1B1*.

Haplótipo	C-G	C-T	G-G	G-T
Frequência	0,61	0,01	0,01	0,37
Valor D	0,23	-0,23	-0,23	0,23

4.3. Análise da associação entre os polimorfismos maternos e os aspectos clínicos e antropométricos da mãe e do bebê e hábitos da mãe

As análises estatísticas estão descritas nas tabelas 5, 6 e 7. Foi detectada associação significativa entre o SNP rs1056836 e a idade materna ($p=0,013$) e IMC pré-gestacional ($p=0,027$) (**Tabela 7**). O genótipo homocigoto variante para este SNP (GG) mostrou relação com IMC pré-gestacional médio menor ($21,99 \text{ Kg/m}^2$) quando comparado com os demais genótipos. De forma semelhante, foi observada uma associação significativa entre o genótipo GG do SNP rs1056836 com idade materna média menor ($23,81$ anos) e uma maior proporção de gestantes com idades menores ou iguais a 24 anos ($p=0,018$), quando comparado com os demais intervalos de idades (25 a 29 e maior ou igual a 30).

Nenhuma das demais características e hábitos maternos demonstrou associação significativa com os polimorfismos do gene *CYP1B1* analisados.

Tabela 5 - Resultados das análises estatísticas de associação entre os genótipos do SNP rs10012 e os aspectos clínicos e antropométricos da mãe e do bebê e hábitos da mãe.

Genótipo	CC	CG	GG	Total	p
<u>Características</u>					
<u>Maternas:</u>					
-Frequência	95 (38%)	115 (46%)	40 (16%)	250 (100%)	—
-Idade (anos)					
Média	27,46±6,11	26,59±5,77	25,5±6,11	26,75±5,97	0,203
≤24	29 (30,85%)	43 (45,74%)	22 (23,4%)	94 (100%)	0,102
25-29	26 (40,63%)	29 (45,31%)	9 (14,06%)	64 (100%)	
≥30	40 (43,48%)	43 (46,74%)	9 (9,78%)	92 (100%)	
-IMC pré-gestacional (Kg/m ²)					
Média	23,99±4,26	24,37±5,12	24,02±5,7	24,17±4,9	0,837
Abaixo do peso (<19,8)	13 (31,71%)	17 (41,46%)	11 (26,83%)	41 (100%)	0,347
Saudável (19,8 a 26)	57 (40,71%)	67 (47,86%)	16 (11,43%)	140 (100%)	
Sobrepeso (>26 a 29)	10 (41,67%)	10 (41,67%)	4 (16,67%)	24 (100%)	
Obesidade (>29)	15 (33,33%)	21 (46,67%)	9 (20%)	45 (100%)	
-Tabagismo					
Sim	5 (33,33%)	7 (46,67%)	3 (20%)	15 (100%)	0,881
Não	90 (38,30%)	108 (45,96%)	37 (15,74%)	235 (100%)	
-Etilismo					
Sim	73 (38,62%)	88 (46,56%)	28 (14,81%)	189 (100%)	0,666
Não	22 (36,07%)	27 (44,26%)	12 (19,97%)	61 (100%)	
-Etnia					
Branca	16 (45,71%)	18 (51,43%)	1 (2,86%)	35 (100%)	0,104
Parda	44 (40%)	44 (40%)	22 (20%)	110 (100%)	
Negra	35 (33,33%)	53 (50,48%)	17 (16,19%)	105 (100%)	
-Número de gestações					
0	38 (35,51%)	53 (49,53%)	16 (14,95%)	107 (100%)	0,662
1	35 (42,68%)	32 (39,02%)	15 (18,29%)	82 (100%)	
2	22 (36,07%)	30 (49,18%)	9 (14,75%)	61 (100%)	
<u>Características do bebê ao nascer:</u>					
-Peso (g)	3271,77±475,04	3375,7±486,31	3299,8±558,15	3324,06±494,6	0,3

Tabela 6 - Resultados das análises estatísticas de associação entre os genótipos do SNP rs1056827 e os aspectos clínicos e antropométricos da mãe e do bebê e hábitos da mãe.

Genótipo	GG	GT	TT	Total	p
Características Maternas:					
-Frequência	93 (37,2%)	118 (47,2%)	39 (15,6%)	250 (100%)	—
-Idade (anos)					
Média	27,26±6,15	26,77±5,72	25,46±6,21	26,75±5,97	0,287
≤24	30 (31,91%)	42 (44,68%)	22 (23,4%)	94 (100%)	0,113
25-29	26 (40,63%)	30 (46,88%)	8 (12,5%)	64 (100%)	
≥30	37 (40,22%)	46 (50%)	9 (9,78%)	92 (100%)	
-IMC pré-gestacional (Kg/m ²)					
Média	24,33±4,82	24,2±4,64	23,71±5,85	24,17±4,9	0,802
Abaixo do peso (<19,8)	12 (29,27%)	17 (41,46%)	12 (29,27%)	41 (100%)	0,122
Saudável (19,8 a 26)	55 (39,29%)	70 (50%)	15 (10,71%)	140 (100%)	
Sobrepeso (>26 a 29)	8 (33,33%)	13 (54,17%)	3 (12,5%)	24 (100%)	
Obesidade (>29)	18 (40%)	18 (40%)	9 (20%)	45 (100%)	
-Tabagismo					
Sim	4 (26,67%)	8 (53,33%)	3 (20%)	15 (100%)	0,67
Não	89 (37,87%)	110 (46,81%)	36 (15,32%)	235 (100%)	
-Etilismo					
Sim	70 (37,04%)	91 (48,15%)	28 (14,81%)	189 (100%)	0,795
Não	23 (37,7%)	27 (44,26%)	11 (18,03%)	61 (100%)	
-Etnia					
Branca	15 (42,86%)	19 (54,29%)	1 (2,86%)	35 (100%)	0,15
Parda	44 (40%)	46 (41,82%)	20 (18,18%)	110 (100%)	
Negra	34 (32,38%)	53 (50,48%)	18 (17,14%)	105 (100%)	
-Número de gestações					
0	38 (35,51%)	54 (50,47%)	15 (14,02%)	107 (100%)	0,781
1	33 (40,24%)	34 (41,46%)	15 (18,29%)	82 (100%)	
2	22 (36,07%)	30 (49,18%)	9 (14,75%)	61 (100%)	
Características do bebê ao nascer:					
-Peso (g)	3298,96±484,15	3344,96±477,71	3320,69±574,38	3324,06±494,6	0,799

Tabela 7 - Resultados das análises estatísticas de associação entre os genótipos do SNP rs1056836 e os aspectos clínicos e antropométricos da mãe e do bebê e hábitos da mãe.

Genótipo	CC	CG	GG	Total	p
<u>Características Maternas:</u>					
-Frequência	89 (35,6%)	130 (52%)	31 (12,4%)	250 (100%)	—
- Idade (anos)					
Média	27,20±5,65	27,14±6,14	23,81±5,45	26,75±5,97	0,013*
≤24	27 (28,72%)	49 (52,13%)	18 (19,15%)	94 (100%)	0,018*
25-29	29 (45,31%)	27 (42,19%)	8 (12,5%)	64 (100%)	
≥30	33 (35,87%)	54 (58,7%)	5 (5,43%)	92 (100%)	
-IMC pré-gestacional (Kg/m ²)					
Média	24,62±5,46	24,39±4,53	21,99±4,2	24,17±4,9	0,027*
Abaixo do peso (<19,8)	13 (31,71%)	17 (41,46%)	11 (26,83%)	41 (100%)	0,078
Saudável (19,8 a 26)	48 (34,29%)	77 (55%)	15 (10,71%)	140 (100%)	
Sobrepeso (>26 a 29)	8 (33,33%)	14 (58,33%)	2 (8,33%)	24 (100%)	
Obesidade (>29)	20 (44,44%)	22 (48,89%)	3 (6,67%)	45 (100%)	
-Tabagismo					
Sim	5 (33,33%)	8 (53,33%)	2 (13,33%)	15 (100%)	0,98
Não	84 (35,74%)	122 (51,91%)	29 (12,34%)	235 (100%)	
-Etilismo					
Sim	65 (34,39%)	101 (53,44%)	23 (12,17%)	189 (100%)	0,719
Não	24 (39,34%)	29 (47,54%)	8 (13,11%)	61 (100%)	
-Etnia					
Branca	9 (25,71%)	20 (57,14%)	6 (17,14%)	35 (100%)	0,515
Parda	38 (34,55%)	57 (51,82%)	15 (13,64%)	110 (100%)	
Negra	42 (40%)	53 (50,48%)	10 (9,52%)	105 (100%)	
-Número de gestações					
0	32 (29,91%)	61(57,01%)	14 (13,08%)	107 (100%)	0,399
1	36 (43,9%)	37 (45,12%)	9 (10,98%)	82 (100%)	
2	21 (34,43%)	32 (52,46%)	8 (13,11%)	61 (100%)	
<u>Características do bebê ao nascer:</u>					
-Peso (g)	3250,23±515,76	3363,37±468,01	3371,19±532,08	3324,06±494,6	0,214

Valores marcados com asterisco (*) são os valores considerados significativos (p<0,05).

4.4. Análise epidemiológica da Idade gestacional de nascimento

Dentre as características e hábitos maternos analisados apenas a idade materna e o IMC pré-gestacional médio demonstraram relação significativa com a idade gestacional de nascimento. A idade materna média observada para nascimentos no período termo inicial (29,29 anos) foi maior do que as idades para nascimentos prematuros (24,76 anos) e a termo (26,91). O mesmo foi observado para o IMC pré-gestacional médio, com o maior valor (25,46 Kg/m²) obtido para nascimentos no período termo inicial (Tabela 8).

Tabela 8 - Resultado da análise epidemiológica da idade gestacional de nascimento.

Variável	Prematuro	Termo inicial	A termo	Total	p
Idade materna média (anos)	24,76	29,29	26,91	27,24	0,0009*
IMC pré-gestacional (Kg/m ²)					
Média	23,10	25,46	23,86	24,17	0,035*
Abaixo do peso (<19,8)	6 (14,63%)	7 (17,07%)	28 (68,29%)	41 (100%)	0,175
Saudável (19,8 a 26)	23 (16,43%)	33 (23,57%)	84 (60%)	140 (100%)	
Sobrepeso (>26 a 29)	1 (4,17%)	9 (37,5%)	14 (58,33%)	24 (100%)	
Obesidade (>29)	3 (6,67%)	16 (35,56%)	26 (57,78%)	45 (100%)	
Etnia				35	
Branca	6 (17,14%)	9 (25,71%)	20 (57,14%)	35 (100%)	0,278
Parda	17 (15,45%)	33 (30%)	60 (54,55%)	110 (100%)	
Negra	10 (9,52%)	23 (21,9%)	72 (68,57%)	105 (100%)	
Tabagismo				15	
Sim	0 (0%)	6 (40%)	9 (60%)	15 (100%)	0,191
Não	33 (14,04%)	59 (25,11%)	143 (60,85%)	235 (100%)	
Etilismo				61	
Sim	11 (18,03%)	19 (31,15%)	31 (50,82%)	61 (100%)	0,168
Não	22 (11,64%)	46 (24,34%)	121 (64,02%)	189 (100%)	

Valores marcados com asterisco (*) são os valores considerados significativos (p<0,05).

4.5. Relação dos SNPs rs10012, rs1056827 e 1056836 e idade gestacional de nascimento

Não foram encontradas associações significativas entre nenhum dos polimorfismos do gene *CYP1B1* e a idade gestacional de nascimento (**Tabela 9**).

Tabela 9 - Resultados das análises estatísticas de associação entre os SNPS rs10012, rs1056827 e 1056836 do gene *CYP1B1* e a idade gestacional de nascimento.

SNP	Genótipo	Média	Pré-termo (33-36)	A termo inicial (37-38)	A termo (39-42)
rs10012	CC	38,64±1,85	14 (42,43%)	22 (33,84%)	59 (38,82%)
	CG	38,67±2,08	13 (39,39%)	28 (43,08%)	74 (48,68%)
	GG	38,28±1,85	6 (18,18%)	15 (23,08%)	19 (12,5%)
	p	0,434		0,347	
rs1056827	GG	38,65±1,86	14 (42,42%)	20 (30,77%)	59 (38,81%)
	GT	38,62±2,06	13 (39,39%)	32 (49,23%)	73 (48,03%)
	TT	38,41±1,9	6 (18,18%)	13 (20%)	20 (13,16%)
	p	0,547		0,540	
rs1056836	CC	38,57±2	13 (39,9%)	20 (30,77%)	56 (36,84%)
	CG	38,55±2	17 (51,52%)	37 (56,92%)	76 (50%)
	GG	38,84±1,64	3 (9,09%)	8 (12,31%)	20 (13,16%)
	p	0,375		0,843	
Total		38,6±1,96		33 (100%)	

Também não foi observada associação significativa entre os haplótipos dos SNPs rs10012 e rs1056827 e a idade gestacional de nascimento (**Tabela 10**).

Tabela 10 - Análise da relação entre os haplótipos dos polimorfismos rs10012 e rs1056827 com a idade gestacional de nascimento.

rs10012	rs1056827	Prematuro	Termo inicial	A termo	Total	p
CC	GG	14 (15,56%)	20 (22,22%)	56 (62,22%)	90 (100%)	0,49
	GT	0 (0%)	2 (40%)	3 (60%)	5 (100%)	
	TT	–	–	–	–	
					95	
CG	GG	0 (0%)	0 (0%)	3 (100%)	3 (100%)	0,681
	GT	13 (11,71%)	28 (25,23%)	70 (63,06%)	111 (100%)	
	TT	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	1 (100%)	
					115	
GG	GG	–	–	–	–	0,173
	GT	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	2 (100%)	
	TT	6 (15,79%)	13 (34,21%)	19 (50%)	38 (100%)	
					40	

5. DISCUSSÃO

5.1. Frequências alélicas e genotípicas dos SNPs rs10012, rs1056827 e rs1056836

De forma geral, para todos os SNPs, o genótipo de maior frequência (mais de 46%) foi o heterozigoto e o de menor frequência (menos de 15%) foi o homozigoto variante. Para o polimorfismo rs10012, apenas dois estudos realizados com populações da Polônia e da Cidade do México obtiveram distribuições genotípicas semelhantes ao encontrado aqui, não sendo detectadas diferenças significativas entre as mesmas (TRUBICKA et al., 2010; BUENTELLO-VOLANTE et al., 2013). Entretanto, a maioria dos demais grupos étnicos nos quais esse polimorfismo foi analisado demonstraram distribuições nas frequências diferentes das descritas pelo presente trabalho (CHANG et al., 2014; LIU et al., 2015; YU et al., 2015; PRICE et al., 2016; SANKHWAR et al., 2016). Para este mesmo

polimorfismo, houve concordância para as frequências alélicas em populações da Polônia e da Índia (TRUBICKA et al., 2010; SANKHWAR et al., 2016).

Nenhum dos trabalhos anteriores analisados apresentou uma distribuição genotípica semelhante à encontrada pelo presente trabalho para o SNP rs1056827, nas diferentes populações analisadas (TRUBICKA et al., 2010; BUENTELLO-VOLANTE et al., 2013; CHANG et al., 2014; SHEN et al., 2014; YU et al., 2015; SANKHWAR et al., 2016). Em relação aos alelos, entretanto, apenas uma população da Índia demonstrou frequências semelhantes às relatadas neste trabalho (SANKHWAR et al., 2016).

Um grupo de mulheres do Egito obteve resultados de frequência genotípica e alélica que concordam com o presente trabalho para o SNP rs1056836 (IBRAHIM et al., 2016). Em contrapartida, todos os demais grupos étnicos avaliados pelos estudos analisados relataram distribuições genotípicas diferentes para este mesmo polimorfismo (TRUBICKA et al., 2010; BUENTELLO-VOLANTE et al., 2013; CHANG et al., 2014; SHEN et al., 2014; LIU et al., 2015; LOPES et al., 2015; SALIMI et al., 2015; SZALAI et al., 2015; YU et al., 2015; BERANEK et al., 2016; BIDEAU E ALLEYNE, 2016; BRUREAU et al., 2016; WANG et al., 2016). Para as frequências alélicas, também houve semelhança entre a distribuição relatada pelo atual trabalho e populações da Polônia e República Checa (TRUBICKA et al., 2010; BERANEK et al., 2016). Todos os resultados das análises de frequências genotípicas e alélicas para os três SNPs estudados, em comparação com outros grupos étnicos, estão descritos nas tabelas 11, 12 e 13.

Tabela 11 – Resultados da comparação estatística entre as frequências genotípicas e alélicas do SNP rs10012 de diferentes populações de indivíduos saudáveis com as frequências da população do estudo atual.

Referência	População	Tamanho da amostra	Genótipo	Frequência		p	Alelo	Frequência		p
				n	%			n	%	
1	Bahia, Brasil	250	CC	106	39,26%	–	C	337	62,41%	–
			CG	125	46,3%		G	203	37,59%	
			GG	39	14,44%					
2	Índia	258	CC	111	43,02%	0,0116*	C	312	60,47%	0,5276
			CG	90	34,88%		G	204	39,53%	
			GG	57	22,09%					
3	Polônia	597	CC	265	44,39%	0,2379	C	795	66,60%	0,0917
			CG	265	44,39%		G	399	33,40%	
			GG	67	11,22%					
4	Cidade do México	100	CC	52	52,00%	0,082	C	142	71%	0,0306*
			CG	38	38,00%		G	58	29%	
			GG	10	10,00%					
5	Homens caucasianos dos EUA	480	CC	264	55,00%	<0,0001*	C	714	74,40%	<0,0001*
			CG	186	38,80%		G	246	25,60%	
			GG	30	6,20%					
6	Homens caucasianos dos EUA	2126	CC	1153	54,23%	<0,0001*	C	2306	66,88%	0,0447*
			CG	804	37,82%		G	1142	33,12%	
			GG	169	7,95%					
7	Oeste da China	550	CC	338	65,70%	<0,0001*	C	823	79,90%	<0,0001*
			CG	147	28,50%		G	207	20,10%	
			GG	30	5,80%					
8	China	300	CC	197	65,67%	<0,0001*	C	482	80,33%	<0,0001*
			CG	88	29,33%		G	118	19,67%	
			GG	15	5,00%					

Os valores de *p* foram calculados pelo Teste Exato de Fisher. Valores marcados com asterisco (*) são os valores considerados significativos ($p < 0,05$). 1: Trabalho atual; 2: Sankhwar et al. (2016); 3: Trubicka et al. (2012); 4: Buentello-Volante et al. (2013); 5: Chang et al. (2014); 6: Price et al. (2016); 7: Liu et al. (2015); 8: Yu et al. (2015).

Tabela 12 - Resultados da comparação estatística entre as frequências genotípicas e alélicas do SNP rs1056827 de diferentes populações de indivíduos saudáveis com as frequências da população do estudo atual.

Referência	População	Tamanho da amostra	Genótipo	Frequência		p	Alelo	Frequência		p	
				n	%			n	%		
1	Bahia, Brasil	250	GG	105	38,6%	—	G	337	61,95%	—	
			GT	127	46,69%			T	207		38,05%
			TT	40	14,71%						
2	Índia	258	GG	106	41,08%	0,0269*	G	307	59,50%	0,4502	
			GT	95	38,82%			T	209		40,50%
			TT	57	22,09%						
3	Polônia	597	GG	277	46,40%	0,0432*	G	813	68,09%	0,0139*	
			GT	259	43,38%			T	381		31,91%
			TT	61	10,22%						
4	Cidade do México	100	GG	53	53%	0,0422*	G	143	71,50%	0,0157*	
			GT	37	37%			T	57		28,50%
			TT	10	10%						
5	Homens caucasianos dos EUA	480	GG	266	55,40%	<0,0001*	G	718	74,80%	<0,0001*	
			GT	186	38,80%			T	242		25,20%
			TT	28	5,80%						
6	China	300	GG	129	43%	<0,0001*	G	423	70,50%	0,0026*	
			GT	165	55%			T	177		29,50%
			TT	6	2%						
7	Dinastia Han, China	300	GG	236	78,70%	<0,0001*	G	536	89,33%	<0,0001*	
			GT	64	21,30%			T	64		10,67%
			TT	0	0%						

Os valores de *p* foram calculados pelo Teste Exato de Fisher. Valores marcados com asterisco (*) são os valores considerados significativos ($p < 0,05$). 1: Trabalho atual; 2: Sankhwar et al. (2016); 3: Trubicka et al. (2012); 4: Buentello-Volante et al. (2013); 5: Chang et al. (2014); 6: Yu et al. (2015); 7: Shen et al. (2014).

Tabela 13 - Resultados da comparação estatística entre as frequências genotípicas e alélicas do SNP rs1056836 de diferentes populações de indivíduos saudáveis com as frequências da população do estudo atual.

Referência	População	Tamanho da amostra	Genótipo	Frequência		p	Alelo	Frequência		p
				n	%			n	%	
1	Bahia, Brasil	250	CC	97	35,66%	—	C	334	61,4%	—
			CG	140	51,47%		G	210	38,6%	
			GG	35	12,87%					
2	Mulheres do Egito	40	CC	12	30%	0,4445	C	32	53,30%	0,2654
			CG	20	50%		G	28	46,70%	
			GG	8	20%					
3	Polônia	597	CC	206	34,45%	0,0102*	C	677	56,61%	0,0666
			CG	265	44,31%		G	519	43,39%	
			GG	127	21,24%					
4	Homens caucasianos dos EUA	480	CC	127	26,50%	0,0034*	C	506	52,70%	0,0012*
			CG	252	52,50%		G	454	47,30%	
			GG	101	21%					
5	Crianças do Brasil	317	CC	78	24,60%	0,0003*	C	317	50%	0,0001*
			CG	161	50,80%		G	317	50%	
			GG	78	24,60%					
6	República Checa	46	CC	17	36,96%	<0,0001*	C	55	59,78%	0,8173
			CG	2	45,65%		G	37	40,22%	
			GG	8	17,39%					
7	Cidade do México	100	CC	52	52%	0,0171*	C	400	91,74%	<0,0001*
			CG	38	38%		G	36	8,26%	
			GG	10	10%					
8	Mulheres do Sudoeste do Irã	112	CC	56	50%	0,0322*	C	157	70%	0,0255*
			CG	45	40%		G	67	30%	
			GG	11	10%					
9	Dona de casa do Norte da China	231	CC	169	73%	<0,0001*	C	397	85,93%	<0,0001*
			CG	59	26%		G	65	14,07%	
			GG	3	1%					
10	China	300	CC	227	75,67%	<0,0001*	C	522	87%	<0,0001*
			CG	68	22,67%		G	78	13%	
			GG	5	1,67%					
11	Oeste da China	550	CC	395	76,70%	<0,0001*	C	904	87,80%	<0,0001*

Continua...

...continuação.

Referência	População	Tamanho da amostra	Genótipo	Frequência		p	Alelo	Frequência		p
				n	%			n	%	
			CG	114	14,10%		G	126	12,20%	
			GG	6	1,20%					
12	Dinastia Han, China	300	CC	250	83,30%	<0,0001*	C	550	91,67%	<0,0001*
			CG	50	16,70%		G	50	8,33%	
			GG	0	0%					
13	Roma	397	CC	45	11,34%	<0,0001*	C	243	30,60%	<0,0001*
			CG	153	38,54%		G	551	69,40%	
			GG	199	50,12%					
13	Hungria	412	CC	45	10,92%	<0,0001*	C	295	35,80%	<0,0001*
			CG	205	49,76%		G	529	64,20%	
			GG	162	39,32%					
14	Caribe (Guadalupe)	548	CC	42	8%	<0,0001*	C	289	26%	<0,0001*
			CG	205	37%		G	807	74%	
			GG	301	55%					
14	República Democrática do Congo	144	CC	3	2%	<0,0001*	C	49	18%	<0,0001*
			CG	43	31%		G	229	82%	
			GG	93	67%					
15	Mulheres de Barbados	52	CC	1	1,90%	<0,0001*	C	10	9,60%	<0,0001*
			CG	8	15,40%		G	94	90,40%	
			GG	43	82,70%					

Os valores de *p* foram calculados pelo Teste Exato de Fisher. Valores marcados com asterisco (*) são os valores considerados significativos ($p < 0,05$). 1: Trabalho atual; 2: Ibrahim et al. (2016); 3: Trubicka et al. (2012); 4: Chang et al. (2014); 5: Lopes et al. (2015); 6: Beranek et al. (2016); 7: Buentello-Volante et al. (2013); 8: Salimi et al. (2015); 9: Wang et al. (2016); 10: Yu et al. (2015); 11: Liu et al. (2015); 12: Shen et al. (2014); 13: Szalai et al. (2015); 14: Brureau et al. (2016); 15: Bideau e Alleyne (2016).

Levando em consideração as frequências dos trabalhos analisados, juntamente com as encontradas pelo trabalho atual, foi observada uma variação nas frequências alélicas e, conseqüentemente, genotípicas, entre diferentes grupos étnicos. Para o SNP rs10012, de maneira geral, populações chinesas possuíam frequências alélicas maiores do alelo C (em torno de 80%) em relação ao alelo G do que populações caucasianas. Estas variações foram ainda mais evidentes para o SNP rs1056836, de forma que populações chinesas possuíam baixa frequência de alelo G (em torno de 2%) e frequências bem maiores do alelo C. De forma contrastante, este quadro de distribuição alélica se inverteu em populações negras. Em relação aos caucasianos, as

frequências de ambos os alelos tenderam a aproximar-se do equilíbrio. As diferenças nas frequências encontradas podem explicar-se pelas variações genéticas presentes entre as diferentes populações analisadas (Xu et al., 2012). Deve-se considerar também a possibilidade da influência de fatores regionais sobre a distribuição alélica entre as populações, como fatores ambientais e relacionados à dieta (DONG et al., 2012). Isto também pode alterar a importância dos polimorfismos do gene *CYP1B1* para cada população específica (Xu et al., 2012).

Este trabalho detectou um DL entre os SNPs rs10012 e rs1056827. O DL é a associação não aleatória de alelos localizados em diferentes loci devido à ligação física entre estes, ou seja, situados em regiões próximas ao longo de um cromossomo (CARNEIRO E VIEIRA, 2002; FLINT-GARCIA et al., 2003). Este fenômeno é originado do desequilíbrio gamético de ligação decorrente, por sua vez, da redução da frequência de recombinação (CARNEIRO E VIEIRA, 2002). De forma semelhante, outros estudos também observaram DL entre estes SNPs (MUSTAFA et al., 2013a; CHANG et al., 2014). Por este motivo, foi feita uma análise estatística para avaliar uma possível associação dos haplótipos desses SNPs com a idade gestacional de nascimento. Entretanto, não foi detectado correlação significativa entre nenhum dos haplótipos com o desfecho gestacional, o que contrasta com o trabalho de Mustafa et al. (2013a).

5.2. Associação das características clínicas e antropométricas maternas com a idade gestacional de nascimento

Foi encontrada uma associação significativa entre a idade gestacional de nascimento e a idade materna ($p=0,0009$) e IMC pré-gestacional médios ($p=0,035$) (Tabela 8). Nenhuma das demais características analisadas (intervalos de IMC pré-gestacional, etnia, tabagismo e etilismo) demonstrou associação significativa com a idade gestacional de nascimento.

Foi observado uma idade materna média de 24,76 anos para mães que realizaram parto pré-termo, 29,29 anos para gestantes cujo parto ocorreu no período a termo

inicial, e de 26,91 anos para o período de nascimento a termo. Resultado semelhante foi encontrado por Mustafa et al. (2013af), que detectou uma média de idade materna de $23,44 \pm 2,48$ anos para gestantes com parto prematuro e média de $24,33 \pm 3,06$ anos para o grupo de gestantes que realizaram parto com mais de 37 semanas. Não foi identificada diferença significativa entre parto prematuro e parto a termo para a idade materna média. Apesar disso, é importante levar em consideração a diferença observada entre partos prematuros e partos a termo inicial. Isto porque já foi relatado que o risco para alguns desfechos gestacionais adversos, como baixos níveis de escolaridade, pode sofrer uma diminuição para cada semana de gestação que se avança, até 40 semanas, incluindo a categoria de parto a termo (PARANJOTHY et al., 2013).

Outros trabalhos detectaram uma relação entre mães mais jovens e a ocorrência de parto prematuro (MUSTAFA et al., 2013a; MUSTAFA et al., 2013af; GRANTZ et al., 2015; LUNDSBERG et al., 2015; LEAL et al., 2016; WALDENSTROM et al., 2016; TABET et al., 2017).

Já foi relatada uma maior porcentagem de parto prematuro moderado (32-36 semanas) para gestantes a partir da segunda gestação com idades de 20 a 24 anos, além de para gestantes com mais de 30 anos (WALDENSTROM et al., 2016). Os mesmos autores observaram, no entanto, uma maior frequência de parto prematuro tanto inicial (22-31 semanas) quanto moderado para gestantes na primeira gestação, mas apenas para gestantes mais velhas, com mais de 30 anos (WALDENSTROM et al., 2016). Esta associação foi mais forte para parto prematuro inicial do que moderado, principalmente para partos por indicação médica (WALDENSTROM et al., 2016).

Ao analisar nascimentos ocorridos no Brasil entre os anos de 2011 e 2012, Leal et al. (2016) detectaram um aumento no risco de parto prematuro espontâneo para mães adolescentes e de parto prematuro por indicação médica para mães com idade avançada (com 35 anos ou mais).

Ainda considerando a idade materna, Tabet et al. (2017) observaram um efeito protetor contra a prematuridade tardia (34 a 36 semanas) para mães adolescentes americanas mais velhas em relação às mais novas, independente da etnia, exceto para índias americanas. Por outro lado, uma associação significativa com idade materna menor que 19 anos não foi detectada por Pereyra et al. (2016), quando analisada juntamente com gestantes de idade acima de 35 anos.

De acordo com a OMS, pessoas na idade de 10 a 19 anos são consideradas adolescentes e cerca de 11% dos nascimentos ocorridos em todo o mundo são provenientes de meninas entre 15 e 19 anos (WHO, 2016). A gestação na adolescência é reconhecida pela literatura como um fator de risco importante para o parto prematuro (LEAL et al., 2016). Isto deve-se principalmente pela situação de maior vulnerabilidade social, crescimento corporal incompleto e pelo cuidado pré-natal que geralmente é inadequado nesta classe de gestantes (LEAL et al., 2016; TABET et al., 2017).

No presente trabalho, mulheres com partos prematuros apresentaram IMC pré-gestacional médio mais baixo (23,1 Kg/m²) em relação a gestantes com parto a termo inicial (25,46 Kg/m²), apesar dessas duas médias de valores de IMC se encaixarem na faixa de IMC considerado saudável. Entretanto, os intervalos de IMC pré-gestacional não demonstraram associação significativa com a idade gestacional de nascimento. Esta relação também não foi detectada por Leal et al. (2016) ao considerar parto prematuro espontâneo. Entretanto, o parto prematuro por indicação médica foi significativamente associado a IMC pré-gestacional elevado (acima de 30 Kg/m²) (LEAL et al., 2016).

Trabalhos realizados anteriormente relataram uma relação entre parto prematuro e baixo IMC pré-gestacional (GRANTZ et al., 2015; LUNDSBERG et al., 2015; SMITH et al., 2015; TABET et al., 2017). Tabet et al. (2017) detectaram um aumento no risco de parto prematuro tardio para mães adolescentes americanas brancas, negras e hispânicas consideradas com baixo peso (IMC < 18,5 Kg/m²). De forma semelhante, Smith et al. (2015) identificaram um maior risco de parto prematuro tardio e moderado para mulheres com IMC pré-gestacional menor do que 20 Kg/m², após análise multivariada considerando hábitos de vida e fatores sociodemográficos. Pan et al. (2016), por sua vez, identificaram um aumento no risco de parto prematuro tanto para IMC pré-gestacional baixo quanto alto, sendo que a associação foi mais forte para o primeiro caso.

Baixo IMC pré-gestacional pode ser resultado de um estado nutricional materno inadequado (PAN et al., 2016). A deficiência em certos elementos nutricionais tornam as gestantes mais suscetíveis à inflamação e infecção crônica, o que aumenta o risco de parto pré-termo (PAN et al., 2016). A desnutrição materna também tem sido associada a uma diminuição do peso e da área de superfície da placenta (PAN et al., 2016). Isto pode diminuir a troca de nutrientes e resíduos entre as circulações materna

e fetal, além de restringir outros processos normais de crescimento e desenvolvimento do feto (PAN et al., 2016). Indiretamente, a explicação pode estar relacionada à associação com outros fatores de risco como tabagismo, doença e inclusão em classes socioeconômicas mais baixas, que, por sua vez, pode envolver trabalho manual intenso ou predisposição étnica (HAN et al., 2011).

Não foi detectado associação significativa entre a idade gestacional de nascimento e a etnia das gestantes, o que concorda com o resultado encontrado por Leal et al. (2016). Em contraste com o relatado neste trabalho, Smith et al. (2015) identificaram um aumento do risco na ocorrência de parto prematuro entre mulheres chinesas ou outros grupos étnicos, em uma análise multivariada considerando hábitos de vida e fatores sociodemográficos. No trabalho de Grantz et al. (2015), as etnias das Ilhas Asiáticas e Pacíficas demonstraram um aumento para o risco de parto prematuro incidente. Ao ser analisado uma população de gestantes de Nova Iorque entre os anos de 2000 a 2010, Frankel (2011) detectou uma maior frequência de nascimentos prematuros para mães negras, hispânicas e asiáticas em relação às caucasianas. Dentre as etnias de maior frequência de parto prematuro, a etnia Negra apresentou os riscos mais altos (FRANKEL, 2011). A mesma relação foi detectada por Buck et al. (2016), também para gestantes não hispânicas negras e brancas dos Estados Unidos. Lundsberg et al. (2015) também já relataram um risco de parto prematuro diminuído para mulheres Caucasianas.

Tsai et al. (2011), por sua vez, identificaram uma associação significativa entre a ancestralidade Africana e o parto pré-termo e pré-termo inicial (menos de 34 semanas), mas não com pré-termo tardio (entre 34 e 37 semanas). A diferença observada na associação entre ancestralidade e parto prematuro inicial e tardio, indica que o efeito da etnia pode ser mais forte sobre a prematuridade inicial, apesar de o mecanismo responsável por tal diferença ainda não ser conhecido (TSAI et al., 2011). Isto pode justificar o fato de não ter sido encontrada uma relação entre parto prematuro e etnia no presente trabalho, já que o intervalo de prematuridade foi analisado de forma generalizada.

Concordando com este trabalho, Leal et al. (2016) também não detectaram associação significativa entre o hábito tabagista pela gestante e a idade gestacional de nascimento. Em contrapartida, vários outros estudos detectaram associação positiva entre a ocorrência de parto prematuro e o hábito tabagista durante a gestação (TSAI et al., 2011; GRANTZ et al., 2015; LUNDSBERG et al., 2015; SMITH et al., 2015; PEREYRA et al., 2016;

TABET et al., 2017). Tabet et al. (2017) identificaram uma associação entre tabagismo e um aumento no risco de parto prematuro tardio para mães adolescentes. Smith et al. (2015) também detectaram um aumento na taxa de parto prematuro tardio e moderado (32 a 36 semanas) em gestantes do Reino Unido que mantiveram o hábito tabagista durante a gestação, quando comparado com não fumantes, gestantes que pararam antes da gravidez e que pararam até o terceiro trimestre de gravidez. Ao analisar parto prematuro incidente e recorrente para segunda gestação, Grantz et al. (2015) identificaram aumento no risco para o hábito tabagista durante a gestação apenas nos casos de parto prematuro incidente.

Apesar de o hábito tabagista ser reconhecido por aumentar o risco de parto prematuro (ION E BERNAL, 2015), isto não foi detectado por este estudo. A possível explicação para este resultado é que o tabagismo pode ser considerado um fator de risco fraco para este desfecho gestacional (KRAMER, 2015). Isto porque o uso do cigarro durante a gestação tem se tornado menos frequente, resultando em uma redução nas taxas de mães tabagistas (KRAMER, 2015).

Em concordância com este estudo, Dale et al. (2016) não detectaram associação significativa entre a idade gestacional de nascimento e o hábito etilista entre gestantes. Esta relação também não foi observada por Lundsberg et al. (2015), quando considerados grupos de gestantes com ingestão baixa a moderada de álcool durante a gestação. Entretanto, o hábito etilista antes e durante a gestação têm demonstrado diferentes relações com o risco de parto prematuro na literatura. Gestantes que nunca beberam álcool apresentaram maiores taxas de parto prematuro tardio e moderado no trabalho de Smith et al. (2015). Taxas menores foram detectadas para gestantes que pararam de beber antes da gravidez, pararam no primeiro trimestre ou mantiveram o hábito etilista durante a gestação (SMITH et al., 2015). Contudo, essa associação foi revertida após ajuste para etnia, de forma que a etnia pode ser um fator de confusão na relação entre etilismo e parto prematuro (SMITH et al., 2015). Além disso, já foi relatado um aumento no risco de ocorrência de parto prematuro recorrente para o hábito etilista durante a gestação (GRANTZ et al., 2015). O mesmo não foi detectado para parto prematuro incidente (GRANTZ et al., 2015).

Os questionários aplicados às gestantes permitiram a coleta de uma grande quantidade de dados, o que favoreceu uma análise mais abrangente. Entretanto, é necessário ter cautela na hora de interpretar esses dados, principalmente por serem resultantes de

autorrelato (DALE et al., 2016). Gestantes que acharam que fizeram algo que não é indicado ou desejável pela sociedade tendem a omitir dados, principalmente no que se refere ao uso de cigarro e álcool (PATRA et al., 2011; SMITH et al., 2015; DALE et al., 2016; SBRANA et al., 2016). Isto pode resultar em uma classificação errada das gestantes para determinadas variáveis, podendo dificultar a identificação de uma possível influência destas no efeito analisado (DALE et al., 2016). Isto pode ter sido uma das possíveis justificativas para os resultados contrastantes entre este trabalho e outros anteriormente realizados. Além disso, neste e em muitos outros trabalhos, partos prematuros espontâneos e por indicação médica não foram identificados e/ou não foram analisados de forma separada, o que também pode ter relação com os diferentes resultados encontrados (TABET et al., 2017).

5.3. Análise da relação dos SNPs rs10012, rs1056827 e 1056836 com características maternas e do bebê e com a idade gestacional de nascimento

Em relação às análises entre os polimorfismos do gene *CYP1B1* e as características e hábitos maternos, foi detectada associação significativa entre o genótipo homozigoto variante do SNP rs1056836 e a idade materna ($p=0,013$) e IMC pré-gestacional ($p=0,027$). Nenhuma das demais características e hábitos maternos demonstrou associação significativa com os polimorfismos do gene *CYP1B1* analisados (**Tabela 5**, **Tabela 6** e **Tabela 7**).

Não foram encontradas associações significativas entre nenhum dos polimorfismos do gene *CYP1B1*, incluindo a análise de haplótipos dos SNPs rs10012 e rs1056827, e a idade gestacional de nascimento. Este resultado contrasta com os resultados obtidos pelo trabalho de MUSTAFA ET AL. (2013A), que observou relação significativa dos três polimorfismos com o parto prematuro. De forma semelhante ao trabalho atual, MUSTAFA ET AL. (2013A) observaram a presença de um DL entre os SNPs rs10012 e rs1056827. Entretanto, diferentemente do encontrado no presente estudo, foi observada uma

associação significativa entre o genótipo homozigoto variante (GG e TT) destes SNPs e o parto prematuro (MUSTAFA et al., 2013a). Para o SNP rs1056836, apenas o genótipo heterozigoto (CG) mostrou-se relacionado significativamente com o parto prematuro no trabalho de MUSTAFA ET AL. (2013A), apesar de ter sido observado um aumento também do genótipo homozigoto variante (GG) no grupo caso em relação ao controle. Uma possível relação entre o gene *CYP1B1* e o parto prematuro também foi identificada por Chen et al. (2016f), ao detectar uma diminuição na metilação deste gene no terceiro trimestre de gestação (30ª semana) em casos de parto prematuro espontâneo, quando comparado ao grupo controle, nos Estados Unidos da América.

Levando em consideração a associação significativa entre o genótipo homozigoto variante (GG) do polimorfismo rs1056836 com uma diminuição na idade materna, é possível que tal genótipo apresente uma associação indireta com a idade gestacional de nascimento. A média de idade materna para gestantes com o genótipo GG para este polimorfismo foi de 23,81 anos, enquanto para os genótipos CC e CG foi de 27,2 e 27,14 anos. Além disso, foi detectada uma maior proporção de gestantes com idades menores ou iguais a 24 anos ($p=0,018$) com genótipo GG, quando comparado com os demais intervalos de idades (25 a 29 e maior ou igual a 30). Este trabalho também detectou uma associação significativa entre a idade materna e a idade gestacional de nascimento, com idade materna média de 29,29 anos para nascimentos a termo inicial e de 24,76 anos para os casos de nascimentos prematuros. Como discutido previamente, a gestação na adolescência é reconhecida como um fator de risco importante para o parto prematuro (LEAL et al., 2016). Apesar de a média de idade materna para parto prematuro encontrada não estar incluída na faixa de adolescência, uma diminuição em relação a partos a termo foi identificada. Levando isto em consideração, o resultado encontrado por este trabalho, que mostrou associação entre o genótipo GG do SNP rs1056836 com a menor idade materna, pode sugerir uma maior vulnerabilidade de mães portadoras do genótipo GG à menor idade gestacional de nascimento. Entretanto, para a confirmação de tal inferência, mais estudos são necessários.

Em relação ao IMC pré-gestacional, foi identificada uma influência do SNP rs1056836 sobre o IMC pré-gestacional médio. As médias de IMC pré-gestacional obtidas para os genótipos CC e CG foram 24,62 Kg/m² e 24,39 Kg/m². Estas médias foram maiores do que a média observada para o genótipo GG, que foi de 21,99 Kg/m². Uma redução no IMC pré-gestacional médio também foi observada para gestantes que tiveram os bebês

no período a termo inicial (25,46 Kg/m²) em relação às que tiveram bebês prematuros (23,1 Kg/m²). Apesar de, em ambos os casos, a média de IMC pré-gestacional mais baixa ainda estar incluída na faixa saudável, a variação observada deve ser considerada. Isto porque, como já citado anteriormente, a associação entre o baixo IMC materno e a ocorrência de parto prematuro tem se mostrado consistente pela literatura (PAN et al., 2016). Desta forma, é possível que se possa inferir uma relação entre o genótipo GG do SNP rs1056836 e o aumento do risco de parto prematuro, porém, mais estudos são necessários.

Já foi relatado que a variante Val432 (alelo G do SNP 1056836) do gene *CYP1B1* é capaz de produzir enzimas com atividade 2-4 vezes maior do que a enzima selvagem (variante Leu432) (MUSTAFA et al., 2013a). Sabe-se que a enzima CYP1B1 está envolvida no processo de detoxificação de xenobióticos e no metabolismo do estrogênio (MUSTAFA et al., 2013a). Também é conhecido que esta enzima oxida o E2 preferencialmente na posição 4-OH, em vez da 2-OH, formando o 4-OH-E2 (NISHIDA et al., 2013). A formação de 4-OH-E2, por sua vez, desencadeia a produção de compostos oxidantes e mutagênicos, como os 3,4-catecols e as 3,4-semiquinonas e 3,4-quinonas (MITSUI et al., 2015). Com isso, um aumento da atividade de hidroxilação resultante da variante Val432 do gene *CYP1B1*, em relação ao tipo selvagem, pode aumentar a produção de 4-OH-E2 (MUSTAFA et al., 2013a). Este processo pode ser um dos mecanismos responsáveis pela influência desta variante no risco de ocorrência de parto prematuro, apesar de esta relação ainda não ter sido bem estabelecida pela literatura (MUSTAFA et al., 2013a). Uma das possíveis explicações para isto é o aumento do estresse oxidativo resultante da formação de 4-OH-E2, considerado um fator etiológico primário para o parto prematuro (SUSSAN et al., 2017). O aumento na quantidade EROs pode resultar em um comprometimento na placenta e na geração de gravidezes patológicas (BANU et al., 2016). Além disso, outro fator que pode estar envolvido no processo é o envolvimento da enzima CYP1B1 na metabolização do estrogênio, que é um hormônio importante na manutenção da gravidez e, principalmente, no desencadeamento das contrações uterinas do trabalho de parto (FERNANDES et al., 2002).

De fato, muitas doenças, assim como o parto prematuro, são resultado de uma ação conjunta entre susceptibilidade genética e exposição ambiental (LAMONT, 2015). Uma mulher pode estar exposta a um fator de risco ambiental, mas, se não possuir a susceptibilidade genética pode ser que o dano seja bem pequeno (LAMONT, 2015).

Alternativamente, uma mulher com um polimorfismo genético que aumenta a chances de ocorrência de um determinado dano, mas que não tenha exposição ambiental, pode não desenvolver o dano (LAMONT, 2015). Entretanto, quando tanto a susceptibilidade genética e a exposição ambiental estão presentes, o risco do efeito adverso pode aumentar (LAMONT, 2015). De fato, alguns polimorfismos só exercem influência sobre o risco de determinada condição no contexto de certos fatores ambientais e/ou até de outros polimorfismos genéticos (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Este pode ser o caso de uma possível ação conjunta entre polimorfismo Val432 do SNP1056836 e a diminuição identificada para idade materna e/ou IMC pré-gestacional médios.

Vale considerar a possibilidade de que a ausência de detecção de uma associação significativa entre os polimorfismos de gene *CYP1B1* analisados e a idade gestacional de nascimento, observada pelo trabalho atual, pode estar relacionada a um fator limitante presente neste estudo: a homogeneidade da população em relação ao desfecho gestacional analisado. A maioria das gestantes (152/250) deu à luz no período a termo, 65 partos ocorreram no período a termo inicial e apenas 33 nascimentos foram considerados prematuros. Isto pode ter dificultado a detecção de uma possível influência destes polimorfismos com a idade gestacional de nascimento.

A população analisada no estudo também se mostrou homogênea para outras características, como tabagismo e etnia. Apenas 6% (15/250) da população era tabagista durante a gestação e a maioria (215/250) considerava-se da etnia negra (105/250) ou parda (110/250). Esta homogeneidade pode ter dificultado a identificação de possíveis relações entre características e hábitos maternos com os polimorfismos analisados e com a idade gestacional de nascimento. Isto pode ter sido consequência do delineamento de estudo utilizado no presente trabalho, o de coorte prospectivo, não sendo possível prever o desfecho de cada indivíduo acompanhado pelo estudo.

Apesar de não haver mais relatos na literatura sobre a associação dos polimorfismos rs10012, rs1056827 e rs1056836 do gene *CYP1B1* com a idade gestacional de nascimento e/ou prematuridade, outras malignidades já foram relacionadas a estas variantes genéticas. Há relatos na literatura, por exemplo, de uma possível associação do polimorfismo rs10012 com o aumento no risco de câncer de pulmão e câncer de bexiga (XU et al., 2012; SANKHWAR et al., 2016). Para o câncer colorretal já foi relatado que haplótipos de rs10012 e rs1056827 e de rs1056827 com rs156836 também estão associados ao aumento do risco para o desenvolvimento da doença (TRUBICKA et al.,

2010). O háplótipo G-G dos polimorfismos rs10012 e rs1056827 já foi relacionado à diminuição do risco de ocorrência de glaucoma primário de ângulo aberto (BUENTELLO-VOLANTE et al., 2013). Câncer de laringe, pulmão e bexiga e leiomoma uterino também podem ter seu risco aumentado pelo polimorfismo rs1056827, de acordo com relatos da literatura (XU et al., 2012; SHEN et al., 2014; YU et al., 2015; SANKHWAR et al., 2016). O polimorfismo rs1056836 já foi associado ao aumento do risco de câncer de pulmão e carcinoma hepatocelular (XU et al., 2012; LIU et al., 2015). Além disso, a variante deste locus genético já demonstrou relação com a diminuição do risco de câncer de laringe, leiomoma uterino, câncer renal e leucemia infantil, além de também haver relato deste polimorfismo como preditor de resposta a quimioterapia neoadjuvante para câncer de mama junto com o gene *ERCC1* (CHANG et al., 2014; SHEN et al., 2014; DUMONT et al., 2015; LOPES et al., 2015; YU et al., 2015).

Um fator a ser considerado para a análise dos dados é o número amostral utilizado para o desenvolvimento deste trabalho, com dados de 250 gestantes. Tamanhos amostrais pequenos só permitem a detecção de efeitos genéticos fortes, enquanto amostras maiores podem detectar efeitos muito menores (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Devido à natureza complexa das influências genéticas sobre a idade gestacional de nascimento, principalmente sobre o parto prematuro, é difícil determinar a priori a força de efeito dos genes possivelmente relacionados a tal desordem (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Consequentemente, determinar o tamanho amostral ideal para o estudo genético para tal desfecho gestacional é complexo, sendo talvez necessário a análise de amostras com representatividade ainda maior (PLUNKETT E MUGLIA, 2008).

Este trabalho é o primeiro a investigar uma possível influência entre polimorfismos do gene *CYP1B1* e a idade gestacional de nascimento em uma população brasileira e o segundo no mundo. Outros pontos fortes a serem considerados são a grande quantidade de dados coletados em uma grande amplitude de tempo (de 2009 a 2016), com acompanhamento da gestante durante a gestação e após o parto. Da mesma forma, assim como analisado para os genes rs10012 e rs1056827, deve-se considerar a importância do estudo de padrões DL, levando em conta a análise do grau de correlação entre polimorfismos em uma determinada região cromossômica, de tal modo que cada variante conhecida no gene seja testada diretamente ou representada por outros polimorfismos altamente correlacionados (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Além disso, dados sobre o uso de cigarro durante a gestação foram coletados. Isto é importante inclusive, pois, este dado pode ser um grande fator de confusão da relação

entre o uso de álcool durante a gestação e desfechos gestacionais adversos (SBRANA et al., 2016). Entretanto, assim como em todas as análises de conjunto de dados recolhidos de forma rotineira, há possibilidade de erros no registro de variáveis de exposição, como a idade gestacional de nascimento (PARANJOTHY et al., 2013).

A análise de outras faixas de idade gestacional de nascimento, além da prematuridade, é mais um ponto positivo apresentado por este trabalho. Grande parte dos estudos têm focado no parto prematuro inicial, com idade gestacional inferior a 32 semanas (DAVIDOFF et al., 2006). Poucos trabalhos têm investigado as faixas de prematuridade tardia (34-36 semanas de gestação) ou a termo inicial (37-38 semanas), mesmo sabendo-se atualmente que essas taxas têm aumentado (DAVIDOFF et al., 2006; GOLDENBERG et al., 2009). Isto deve-se ao fato de que crianças nascidas ao final e após o período pré-termo são consideradas em condições de “baixo risco” (BROWN et al., 2014). Entretanto, estudos recentes têm mostrado um risco de morbidade e mortalidade neonatal inclusive para estes períodos de nascimento (BROWN et al., 2014). De acordo com March of Dimes (2012), são necessárias pelo menos 39 semanas para o crescimento e desenvolvimento adequados do bebê. Este tempo é importante para a formação completa de órgãos importantes como cérebro, pulmões e fígado e reduz as chances de problemas de visão e audição do bebê após o nascimento (DIMES, 2012). De fato, devido à importância do assunto, o Conselho Federal de Medicina publicou a Resolução nº 2.144/2016 que impossibilita as gestantes em risco habitual de realizarem cesarianas antes da 39ª semana de gestação (CFM, 2016).

Estudos de coorte dependem do consentimento e do esforço de seus participantes (KRAMER, 2015). Desta forma, há a possibilidade de que as gestantes que participaram do estudo sejam mais cuidadosas com sua gestação e com seus bebês do que gestantes da mesma população que não participaram (KRAMER, 2015). Isto porque as primeiras precisaram realizar repetidas visitas, estar disponíveis e ser acompanhadas por um longo tempo, desde a gestação até após o parto (KRAMER, 2015). Com isso, as taxas de parto prematuro observadas em estudos de coorte podem não equivaler às taxas de nascimentos registradas para a mesma população como um todo (KRAMER, 2015). Isto pode estar relacionado, inclusive, com a homogeneidade observada no presente trabalho para a idade gestacional de nascimento registrada para da população de estudo.

Outro fator que pode complicar a identificação de associação de genes com a idade gestacional de nascimento é o estudo de poucos genes e/ou polimorfismos (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Este trabalho procurou contornar tal problema através da análise de três diferentes polimorfismos de um mesmo gene. Porém, mesmo através desta abordagem, há uma possível limitação de que a idade gestacional de nascimento possa ser afetada pela ação conjunta de diferentes genes e/ou polimorfismos, o que pode provocar o aparecimento de falsos negativos (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Desta forma, uma investigação mais abrangente que considere outros genes e polimorfismos possivelmente associados a tal desfecho gestacional é importante (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Com isso, genes com associação negativa com a idade gestacional de nascimento e/ou prematuridade mas que apresentam cobertura incompleta, como é o caso do *CYP1B1* no presente trabalho, não podem ser descartados de uma possível relação com este desfecho gestacional em estudos posteriores (PLUNKETT E MUGLIA, 2008).

Além disso, um possível efeito combinado entre genótipos maternos e fetais sobre a prematuridade têm sido recentemente discutido (PEREYRA et al., 2016). Enquanto alguns estudos defendem que apenas a análise de genótipos maternos é suficiente, outros relatam uma ação separada dos genótipos maternos e fetais (PEREYRA et al., 2016). Ainda, Pereyra et al. (2016) relataram uma possível ação conjunta entre genes maternos e fetais sobre o risco de prematuridade, ao analisarem genes da interleucina. Neste caso, foi observado um aumento significativo no risco de parto prematuro apenas em casos em que mães e bebês carregavam combinações de SNPs específicas e não quando estes genes eram considerados separadamente (PEREYRA et al., 2016). Desta forma, sugere-se a análise desta possível associação sobre o risco de parto prematuro em estudos futuros (PEREYRA et al., 2016).

Outro ponto a se considerar é que, de forma semelhante à maioria dos estudos relacionados a esta área, este trabalho teve como foco polimorfismos em regiões codificantes que geram alterações não sinônimas. Isto porque tais polimorfismos possuem grandes chances de afetar a expressão/função das proteínas (PLUNKETT E MUGLIA, 2008). Entretanto, é importante considerar que outros tipos de mudanças, como alterações sinônimas, possam também ter alguma influência sobre o desfecho estudado (PLUNKETT E MUGLIA, 2008).

Como demonstrado por este trabalho, há uma variação nas frequências alélicas e, conseqüentemente, genotípicas, para os três polimorfismos do *CYP1B1* analisados entre diferentes grupos étnicos. Desta forma, a possível relação destes SNPs com a idade gestacional de nascimento deve ser testada em outros grupos étnicos em trabalhos posteriores.

A identificação de gestantes com maior risco de apresentarem parto prematuro é de extrema importância, visto que possibilita maior atenção e cuidado durante o período gestacional. Atualmente, mulheres com maior risco podem ser identificadas durante o cuidado pré-natal baseado na história obstétrica (por exemplo, anomalia uterina ou cervical ou nascimento prematuro prévio conhecidos, condições preexistentes, como doenças crônicas) ou a partir de características gestacionais (por exemplo, hipertensão específica da gravidez, diabetes, gestação múltipla e sangramento) (REQUEJO et al., 2013), além de a partir de dados epidemiológicos das gestantes como dados sociodemográficos, hábitos de vida e alimentares, entre outros. Existe uma série de abordagens que visam fornecer cuidado preventivo para esse grupo de mulheres (REQUEJO et al., 2013). Uma das abordagens inclui clínica pré-natal especializada para mulheres com risco evidente para tal desfecho gestacional, que fornece educação em saúde aprimorada e monitoramento e tratamento mais rigorosos dos fatores de risco e complicações da gestação (REQUEJO et al., 2013). Outra abordagem envolve adotar os princípios da medicina personalizada que inclui um planejamento de intervenções específico para cada perfil de risco individual (REQUEJO et al., 2013).

Entretanto, estudos prospectivos que avaliam o uso de ferramentas de triagem de risco baseados em biomarcadores demográficos epidemiológicos e indicadores clínicos na rotina pré-natal, como é o caso deste trabalho, ainda são necessários (REQUEJO et al., 2013). Isto porque, apesar de já se conhecer um número considerável de fatores de risco para o parto prematuro, a predição e prevenção precisas ainda são complicadas (PLUNKETT E MUGLIA, 2008).

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho foi observado um aumento na idade materna e no IMC pré-gestacional médios para mães que realizaram o parto no período a termo inicial, em relação aos períodos prematuro e a termo.

A ausência de detecção de associação entre etnia, hábito tabagista e etilista das gestantes durante a gestação contrasta com outros trabalhos realizados anteriormente. Entre outros fatores, isto pode estar relacionado com uma possível omissão de dados pelas gestantes ao preencherem o questionário ou pelo fato de que não houve distinção entre partos prematuros espontâneos e por indicação médica neste e em muitos outros estudos já realizados.

Dentre os SNPs analisados, apenas o SNP rs1056836 demonstrou associação significativa com a idade materna e o IMC pré-gestacional. Nenhuma das demais características e hábitos maternos ou características do bebê demonstraram associação significativa com os polimorfismos do gene *CYP1B1* analisados.

Este trabalho é o primeiro a investigar uma possível influência entre polimorfismos do gene *CYP1B1* e a idade gestacional de nascimento em uma população brasileira e o segundo no mundo. Entretanto, não foi detectada uma associação direta entre nenhum dos polimorfismos do gene *CYP1B1* analisados e a idade gestacional de nascimento.

O gene *CYP1B1*, analisado pelo presente trabalho, não pode ser descartado de uma possível relação com a idade gestacional de nascimento. Trabalhos posteriores devem analisar a possível associação destes SNPs do *CYP1B1* com a idade gestacional de nascimento em outros grupos étnicos, levando em consideração a grande variação nas frequências alélicas e genóticas demonstrada por este trabalho. Além disso, uma investigação mais abrangente que considere outros genes e polimorfismos, assim como fatores ambientais de risco para tal desfecho gestacional é importante.

Este estudo possui relevância para a academia e para os serviços de saúde e poderá trazer contribuições para o desenvolvimento de uma Assistência Nutricional Pré-Natal de qualidade no Sistema Único de Saúde ao identificar as características maternas e seu impacto na evolução das gestações. Os resultados poderão contribuir para a

identificação de gestantes com alto risco de parto prematuro para um melhor acompanhamento e cuidado ao longo da gestação e, conseqüentemente, auxiliar a se propor estratégias de intervenção visando à diminuição dos riscos para a saúde gestacional, assegurando o nascimento de uma criança saudável e a garantindo bem-estar materno e neonatal.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCIOLY, E.; SAUDERS, C.; LACERDA, E. M. D. A. **Nutrição em obstetrícia e pediatria**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2002. 540.

ACOG, T. A. C. O. O. A. G.-. **Weight gain during pregnancy**. Committee on Obstetrics Practice. 548 2013.

ALHUSEN, J. L.; BOWER, K. M.; EPSTEIN, E.; SHARPS, P. Racial Discrimination and Adverse Birth Outcomes: An Integrative Review. **J Midwifery Womens Health**, 2016.

ARDALIĆ, D.; STEFANOVIĆ, A.; KOTUR-STEVLJEVIĆ, J.; VUJOVIĆ, A.; SPASIĆ, S.; SPASOJEVIĆ-KALIOMANVSKA, V.; JELIĆ-IVANOVIĆ, Z.; MANDIĆ-MARKOVIĆ, V.; MIKOVIĆ, Z.; CEROVIĆ, N. The Influence of Maternal Smoking Habits Before Pregnancy and Antioxidative Supplementation During Pregnancy on Oxidative Stress Status in a Non-Complicated Pregnancy. **Adv Clin Exp Med**, v. 23, n. 4, p. 575–583, 2014.

BALASUBRAMANIAN, S. P.; COX, A.; BROWN, N. J.; REED, M. W. Candidate gene polymorphisms in solid cancers. **Eur J Surg Oncol**, v. 30, n. 6, p. 593-601, 2004.

BANU, S. K.; STANLEY, J. A.; SIVAKUMAR, K. K.; TAYLOR, R. J.; AROSH, J. A.; BURGHARDT, R. C. Exposure to CrVI during Early Pregnancy Increases Oxidative Stress and Disrupts the Expression of Antioxidant Proteins in Placental Compartments. **Toxicol Sci**, 2016.

BENTLEY, J. P.; SIMPSON, J. M.; BOWEN, J. R.; MORRIS, J. M.; ROBERTS, C. L.; NASSAR, N. Gestational age, mode of birth and breastmilk feeding all influence acute early childhood gastroenteritis: a record-linkage cohort study. **BMC Pediatr**, v. 16, n. 1, p. 55, 2016.

BERANEK, M.; FIALA, Z.; KREMLACEK, J.; ANDRYS, C.; HAMAKOVA, K.; CHMELAROVA, M.; PALICKA, V.; BORSKA, L. Genetic polymorphisms in biotransformation enzymes for benzo[a]pyrene and related levels of benzo[a]pyrene-7,8-diol-9,10-epoxide-DNA adducts in Goeckerman therapy. **Toxicol Lett**, v. 255, p. 47-51, 2016.

BIDEAU, V. S.; ALLEYNE, A. T. Leu/Val SNP polymorphism of CYP1B1 and risk of uterine leiomyoma in a Black population. **Tumour Biol**, v. 37, n. 3, p. 4035-40, 2016.

BOYLE, E. M.; POULSEN, G.; FIELD, D. J.; KURINCZUK, J. J.; WOLKE, D.; ALFIREVIC, Z.; QUIGLEY, M. A. Effects of gestational age at birth on health outcomes at 3 and 5 years of age: population based cohort study. **BMJ**, v. 344, p. e896, 2012.

BROWN, H. K.; SPEECHLEY, K. N.; MACNAB, J.; NATALE, R.; CAMPBELL, M. K. Neonatal morbidity associated with late preterm and early term birth: the roles of gestational age and biological determinants of preterm birth. **Int J Epidemiol**, v. 43, n. 3, p. 802-14, 2014.

BROWNFOOT, F. C.; GAGLIARDI, D. I.; BAIN, E.; MIDDLETON, P.; CROWTHER, C. A. Different corticosteroids and regimens for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 8, p. 1-91, 2013.

BRUREAU, L.; MONINGO, D.; EMEVILLE, E.; FERDINAND, S.; PUNGA, A.; LUFUMA, S.; BLANCHET, P.; ROMANA, M.; MULTIGNER, L. Polymorphisms of Estrogen Metabolism-Related Genes and Prostate Cancer Risk in Two Populations of African Ancestry. **PLoS One**, v. 11, n. 4, p. e0153609, 2016.

BUCK, J. N.; ORZECZOWSKI, K. M.; BERGHELLA, V. Racial disparities in cervical length for prediction of preterm birth in a low risk population. **J Matern Fetal Neonatal Med**, p. 1-4, 2016.

BUENTELLO-VOLANTE, B.; ELIZONDO-OLASCOAGA, C.; MIRANDA-DUARTE, A.; GUADARRAMA-VALLEJO, D.; CABRAL-MACIAS, J.; ZENTENO, J. C. Association study of multiple gene polymorphisms with the risk of adult-onset primary open-angle glaucoma in a Mexican population. **Exp Eye Res**, v. 107, p. 59-64, 2013.

BURRIS, H. H.; BACCARELLI, A. A.; WRIGHT, R. O.; WRIGHT, R. J. Epigenetics: linking social and environmental exposures to preterm birth. **Pediatr Res**, v. 79, n. 1-2, p. 136-40, 2016.

BUSTAMANTE, M.; DANILEVICIUTE, A.; ESPINOSA, A.; GONZALEZ, J. R.; SUBIRANA, I.; CORDIER, S.; CHEVRIER, C.; CHATZI, L.; GRAZULEVICIENE, R.; SUNYER, J.; IBARLUZEA, J.; BALLESTER, F.; VILLANUEVA, C. M.; NIEUWENHUIJSEN, M.; ESTIVILL, X.; KOGEVINAS, M. Influence of fetal glutathione

S-transferase copy number variants on adverse reproductive outcomes. **BJOG**, v. 119, n. 9, p. 1141-6, 2012.

CAKMAK CELIK, F.; AYGUN, C.; KUCUKODUK, S.; BEK, Y. Maternal and neonatal outcomes in advanced maternal age: a retrospective cohort study. **J Matern Fetal Neonatal Med**, p. 1-5, 2016.

CARNEIRO, M. S.; VIEIRA, M. L. C. Mapas Genéticos em Plantas. **Scientific Eletronic Library Online**, v. 61, n. 2, p. 89-100, 2002.

CFM, C. F. D. M.-. **RESOLUÇÃO CFM Nº 2.144/2016**. 2.144/2016. Brasília-DF: Diário Oficial da União 2016.

CHANG, I.; FUKUHARA, S.; WONG, D. K.; GILL, A.; MITSUI, Y.; MAJID, S.; SAINI, S.; YAMAMURA, S.; CHIYOMARU, T.; HIRATA, H.; UENO, K.; ARORA, S.; SHAHRYARI, V.; DENG, G.; TABATABAI, Z. L.; GREENE, K. L.; SHIN, D. M.; ENOKIDA, H.; SHIINA, H.; NONOMURA, N.; DAHIYA, R.; TANAKA, Y. Cytochrome P450 1B1 polymorphisms and risk of renal cell carcinoma in men. **Tumour Biol**, v. 35, n. 10, p. 10223-30, 2014.

CHEN, B.; JI, X.; ZHANG, L.; HOU, Z.; LI, C.; TONG, Y. Fish oil supplementation improves pregnancy outcomes and size of the newborn: a meta-analysis of 21 randomized controlled trials. **J Matern Fetal Neonatal Med**, v. 29, n. 12, p. 2017-27, 2016a.

CHEN, P. F.; HE, X. F.; HUANG, G. H.; WANG, W.; QIU, Z. H. Association Between the CYP1B1 Polymorphisms and Lung Cancer Risk: A Meta-Analysis. **Technol Cancer Res Treat**, v. 15, n. 5, p. NP73-82, 2016c.

CHEN, X.; BAI, G.; SCHOLL, T. O. Spontaneous Preterm Delivery, Particularly with Reduced Fetal Growth, is Associated with DNA Hypomethylation of Tumor Related Genes. **J Pregnancy Child Health**, v. 3, n. 1, 2016f.

CHIA, A. R.; DE SEYMOUR, J. V.; COLEGA, M.; CHEN, L. W.; CHAN, Y. H.; ARIS, I. M.; TINT, M. T.; QUAH, P. L.; GODFREY, K. M.; YAP, F.; SAW, S. M.; BAKER, P. N.; CHONG, Y. S.; VAN DAM, R. M.; LEE, Y. S.; CHONG, M. F. A vegetable, fruit, and white rice dietary pattern during pregnancy is associated with a lower risk of preterm birth and larger birth size in a multiethnic Asian cohort: the Growing Up in Singapore Towards healthy Outcomes (GUSTO) cohort study. **Am J Clin Nutr**, v. 104, n. 5, p. 1416-1423, 2016.

CROWTHER, C. A.; HILLER, J. E.; DOYLE, L. W. Magnesium sulphate for preventing preterm birth in threatened preterm labour. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 4, p. 1-128, 2002.

CYPHER, R. L. Reducing recurrent preterm births: best evidence for transitioning to predictive and preventative strategies. **J Perinat Neonatal Nurs**, v. 26, n. 3, p. 220-9, 2012.

DALE, M. T.; BAKKETEIG, L. S.; MAGNUS, P. Alcohol consumption among first-time mothers and the risk of preterm birth: a cohort study. **Ann Epidemiol**, v. 26, n. 4, p. 275-82, 2016.

DAVIDOFF, M. J.; DIAS, T.; DAMUS, K.; RUSSELL, R.; BETTEGOWDA, V. R.; DOLAN, S.; SCHWARZ, R. H.; GREEN, N. S.; PETRINI, J. Changes in the gestational age distribution among U.S. singleton births: impact on rates of late preterm birth, 1992 to 2002. **Semin Perinatol**, v. 30, n. 1, p. 8-15, 2006.

DIMES, M. O. Why at least 39 weeks is best for your baby. Setembro de 2012 2012. Disponível em: < <http://www.marchofdimes.org/pregnancy/why-at-least-39-weeks-is-best-for-your-baby.aspx> >. Acesso em: 27 de janeiro de 2017.

DIRIX, C. E.; KESTER, A. D.; HORNSTRA, G. Associations between term birth dimensions and prenatal exposure to essential and trans fatty acids. **Early Hum Dev**, v. 85, n. 8, p. 525-30, 2009.

DONG, S.; YANG, J.; YU, W.; KOTA, P.; XIA, X.; XU, H. No association of genetic polymorphisms in CYP1B1 with primary open-angle glaucoma: a meta- and gene-based analysis. **Molecular Vision**, v. 18, p. 786-796, 2012.

DUMONT, A.; PANNIER, D.; DUCOULOMBIER, A.; TRESCH, E.; CHEN, J.; KRAMAR, A.; REVILLION, F.; PEYRAT, J. P.; BONNETERRE, J. ERCC1 and CYP1B1 polymorphisms as predictors of response to neoadjuvant chemotherapy in estrogen positive breast tumors. **Springerplus**, v. 4, p. 327, 2015.

FAIQ, M.; SHARMA, R.; DADA, R.; MOHANTY, K.; SALUJA, D.; DADA, T. Genetic, Biochemical and Clinical Insights into Primary Congenital Glaucoma. **Journal of Current Glaucoma Practice**, v. 7, n. 2, p. 66-84, 2013.

FERNANDES, J. S.; FORTUNATO, J. M. S.; CORREIA-PINTO, J. **Fisiologia do sistema reprodutor feminino**. Universidade do Minho. SOF-FISIOLOGIA 2002.

FERRÉ, C.; CALLAGHAN, W.; OLSON, C.; SHARMA, A.; BARFIELD, W. Effects of Maternal Age and Age-Specific Preterm Birth Rates on Overall Preterm Birth Rates — United States, 2007 and 2014. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 65, n. 43, p. 1881-1884, 2016.

FLINT-GARCIA, S. A.; THORNSBERRY, J. M.; BUCKLER, E. S. T. Structure of linkage disequilibrium in plants. **Annu Rev Plant Biol**, v. 54, p. 357-74, 2003.

FRANKEL, L. K. The relation of life insurance to public hygiene. 1910. **Am J Public Health**, v. 101, n. 10, p. 1868-9, 2011.

GERNAND, A. D.; SCHULZE, K. J.; STEWART, C. P.; WEST, K. P., JR.; CHRISTIAN, P. Micronutrient deficiencies in pregnancy worldwide: health effects and prevention. **Nat Rev Endocrinol**, v. 12, n. 5, p. 274-89, 2016.

GHISARI, M.; EIBERG, H.; LONG, M.; BONEFELD-JORGENSEN, E. C. Polymorphisms in phase I and phase II genes and breast cancer risk and relations to persistent organic pollutant exposure: a case-control study in Inuit women. **Environ Health**, v. 13, n. 1, p. 19, 2014.

GOLDENBERG, R. L.; MCCLURE, E. M.; BHATTACHARYA, A.; GROAT, T. D.; STAHL, P. J. Women's perceptions regarding the safety of births at various gestational ages. **Obstet Gynecol**, v. 114, n. 6, p. 1254-8, 2009.

GRANTZ, K. L.; HINKLE, S. N.; MENDOLA, P.; SJAARDA, L. A.; LEISHEAR, K.; ALBERT, P. S. Differences in risk factors for recurrent versus incident preterm delivery. **Am J Epidemiol**, v. 182, n. 2, p. 157-67, 2015.

GREAVES, R. F.; ZACHARIN, M. R.; DONATH, S. M.; INDER, T. E.; DOYLE, L. W.; HUNT, R. W. Establishment of hormone reference intervals for infants born < 30 weeks' gestation. **Clin Biochem**, v. 47, n. 15, p. 101-8, 2014.

GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S. R.; LEWONTIN, R. C.; CARROL, S. B. Mutação, Reparo e Recombinação. In: 9^a (Ed.). **Introdução à genética**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p.712.

HAN, Z.; MULLA, S.; BEYENE, J.; LIAO, G.; MCDONALD, S. D.; KNOWLEDGE SYNTHESIS, G. Maternal underweight and the risk of preterm birth and low birth weight: a systematic review and meta-analyses. **Int J Epidemiol**, v. 40, n. 1, p. 65-101, 2011.

IBRAHIM, M. H.; RASHED, R. A.; HASSAN, N. M.; AL-AZHARY, N. M.; SALAMA, A. I.; MOSTAFA, M. N. No Association of Cytochrome P450-1B1 Gene Polymorphisms with Risk of Breast Cancer: an Egyptian Study. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 17, p. 2861-2866, 2016.

IOM, I. O. M.-. Part I: Nutritional Status and Weight Gain. In: PRESS, N. A. (Ed.). **Nutrition During Pregnancy**. Washington, D.C., 1990.

ION, R.; BERNAL, A. L. Smoking and Preterm Birth. **Reprod Sci**, v. 22, n. 8, p. 918-26, 2015.

JELLIFFE, D. B. **Evaluación del estado de nutrición de la comunidad**. Ginebra: Organización Mundial de La Salud, 1968.

KESMODEL, U.; OLSEN, S. F.; SECHER, N. J. Does Alcohol Increase the Risk of Preterm Delivery? **Epidemiology**, v. 11, n. 5, p. 512-518, 2000.

KISTKA, Z. A.; DEFRANCO, E. A.; LIGTHART, L.; WILLEMSSEN, G.; PLUNKETT, J.; MUGLIA, L. J.; BOOMSMA, D. I. Heritability of parturition timing: an extended twin design analysis. **Am J Obstet Gynecol**, v. 199, n. 1, p. 43 e1-5, 2008.

KOBERLE, B.; KOCH, B.; FISCHER, B. M.; HARTWIG, A. Single nucleotide polymorphisms in DNA repair genes and putative cancer risk. **Arch Toxicol**, 2016.

KOMINIAREK, M. A.; RAJAN, P. Nutrition Recommendations in Pregnancy and Lactation. **Med Clin North Am**, v. 100, n. 6, p. 1199-1215, 2016.

KOULLALI, B.; OUDIJK, M. A.; NIJMAN, T. A.; MOL, B. W.; PAJKRT, E. Risk assessment and management to prevent preterm birth. **Semin Fetal Neonatal Med**, v. 21, n. 2, p. 80-8, 2016.

KRAMER, M. S. Socioeconomic Disparities in Preterm Birth. **Paediatric and Perinatal Epidemiology**, v. 29, n. 3, p. 169-171, 2015.

LABAS, A.; KRAMOS, B.; OLAH, J. Combined Docking and Quantum Chemical Study on CYP-Mediated Metabolism of Estrogens in Man. **Chem Res Toxicol**, 2016.

_____. Combined Docking and Quantum Chemical Study on CYP-Mediated Metabolism of Estrogens in Man. **Chem Res Toxicol**, v. 30, n. 2, p. 583-594, 2017.

LAMONT, R. F. Advances in the Prevention of Infection-Related Preterm Birth. **Front Immunol**, v. 6, p. 566, 2015.

LEAL, M. D.; ESTEVES-PEREIRA, A. P.; NAKAMURA-PEREIRA, M.; TORRES, J. A.; THEME-FILHA, M.; DOMINGUES, R. M.; DIAS, M. A.; MOREIRA, M. E.; GAMA, S. G. Prevalence and risk factors related to preterm birth in Brazil. **Reprod Health**, v. 13, n. Suppl 3, p. 127, 2016.

LIU, F.; LUO, L. M.; WEI, Y. G.; LI, B.; WANG, W. T.; WEN, T. F.; YANG, J. Y.; XU, M. Q.; YAN, L. N. Polymorphisms of the CYP1B1 gene and hepatocellular carcinoma risk in a Chinese population. **Gene**, v. 564, n. 1, p. 14-20, 2015.

LOHMAN, T. G.; ROCHE, A. F.; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Illinois: Human Kinetics Books, 1988.

LOPES, B. A.; EMERENCIANO, M.; GONCALVES, B. A.; VIEIRA, T. M.; ROSSINI, A.; POMBO-DE-OLIVEIRA, M. S. Polymorphisms in CYP1B1, CYP3A5, GSTT1, and SULT1A1 Are Associated with Early Age Acute Leukemia. **PLoS One**, v. 10, n. 5, p. e0127308, 2015.

LUNDSBERG, L. S.; ILLUZZI, J. L.; BELANGER, K.; TRICHE, E. W.; BRACKEN, M. B. Low-to-moderate prenatal alcohol consumption and the risk of selected birth outcomes: a prospective cohort study. **Ann Epidemiol**, v. 25, n. 1, p. 46-54 e3, 2015.

LUO, Y. J.; WEN, X. Z.; DING, P.; HE, Y. H.; XIE, C. B.; LIU, T.; LIN, J. M.; YUAN, S. X.; GUO, X. L.; JIA, D. Q.; CHEN, L. H.; HUANG, B. Z.; CHEN, W. Q. Interaction between maternal passive smoking during pregnancy and CYP1A1 and GSTs polymorphisms on spontaneous preterm delivery. **PLoS One**, v. 7, n. 11, p. e49155, 2012.

MARANGONI, F.; CETIN, I.; VERDUCI, E.; CANZONE, G.; GIOVANNINI, M.; SCOLLO, P.; CORSELLO, G.; POLI, A. Maternal Diet and Nutrient Requirements in Pregnancy and Breastfeeding. An Italian Consensus Document. **Nutrients**, v. 8, n. 10, 2016.

MARTIN, C. L.; SOTRES-ALVAREZ, D.; SIEGA-RIZ, A. M. Maternal Dietary Patterns during the Second Trimester Are Associated with Preterm Birth. **J Nutr**, v. 145, n. 8, p. 1857-64, 2015.

MATHEWS, T. J.; MACDORMAN, M. F.; THOMA, M. E. Infant Mortality Statistics From the 2013 Period Linked Birth/Infant Death Data Set. **National Vital Statistics Reports**, v. 64, n. 9, p. 1-30, 2015.

MATIAS, A.; TIAGO, P.; MONTENEGRO, N. Cálculo da idade gestacional: Métodos e Problemas. **Acta Médica Portuguesa**, v. 15, p. 17-21, 2002.

MENON, R. Oxidative stress damage as a detrimental factor in preterm birth pathology. **Front Immunol**, v. 5, p. 567, 2014.

MITSUI, Y.; CHANG, I.; FUKUHARA, S.; HIRAKI, M.; ARICHI, N.; YASUMOTO, H.; HIRATA, H.; YAMAMURA, S.; SHAHRYARI, V.; DENG, G.; WONG, D. K.; MAJID, S.; SHIINA, H.; DAHIYA, R.; TANAKA, Y. CYP1B1 promotes tumorigenesis via altered expression of CDC20 and DAPK1 genes in renal cell carcinoma. **BMC Cancer**, v. 15, p. 942, 2015.

MUSTAFA, M.; SHARMA, T.; BANERJEE, B. D.; PHIL, M.; AHMED, R. S.; TRIPATHI, A. K.; GULERIA, K. Genetic polymorphisms in Cytochrome P 4501B1 and susceptibility to idiopathic preterm labor in North Indian population. **Clin Biochem**, v. 46, n. 18, p. 1812-5, 2013a.

MUSTAFA, M. D.; BANERJEE, B. D.; AHMED, R. S.; TRIPATHI, A. K.; GULERIA, K. Gene-environment interaction in preterm delivery with special reference to organochlorine pesticides. **Mol Hum Reprod**, v. 19, n. 1, p. 35-42, 2013af.

NISHIDA, C. R.; EVERETT, S.; ORTIZ DE MONTELLANO, P. R. Specificity determinants of CYP1B1 estradiol hydroxylation. **Mol Pharmacol**, v. 84, n. 3, p. 451-8, 2013.

PAN, Y.; ZHANG, S.; WANG, Q.; SHEN, H.; ZHANG, Y.; LI, Y.; YAN, D.; SUN, L. Investigating the association between prepregnancy body mass index and adverse pregnancy outcomes: a large cohort study of 536 098 Chinese pregnant women in rural China. **BMJ Open**, v. 6, n. 6, p. e011227, 2016.

PARANJOTHY, S.; DUNSTAN, F.; WATKINS, W. J.; HYATT, M.; DEMMLER, J. C.; LYONS, R. A.; FONE, D. Gestational age, birth weight, and risk of respiratory hospital admission in childhood. **Pediatrics**, v. 132, n. 6, p. e1562-9, 2013.

PATRA, J.; BAKKER, R.; IRVING, H.; JADDOE, V. W.; MALINI, S.; REHM, J. Dose-response relationship between alcohol consumption before and during pregnancy and the risks of low birthweight, preterm birth and small for gestational age (SGA)-a systematic review and meta-analyses. **BJOG**, v. 118, n. 12, p. 1411-21, 2011.

PEDDIREDDY, V.; BADABAGNI, S. P.; GUNDIMEDA, S. D.; MAMIDIPUDI, V.; PENAGALURU, P. R.; MUNDLURU, H. P. Association of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms with risk of non-small cell lung cancer in Andhra Pradesh region of South India. **Eur J Med Res**, v. 21, p. 17, 2016.

PEREYRA, S.; BERTONI, B.; SAPIRO, R. Interactions between environmental factors and maternal-fetal genetic variations: strategies to elucidate risks of preterm birth. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, v. 202, p. 20-5, 2016.

PERKINS, A. V.; VANDERLELIE, J. J. Multiple micronutrient supplementation and birth outcomes: The potential importance of selenium. **Placenta**, 2016.

PLUNKETT, J.; MUGLIA, L. J. Genetic contributions to preterm birth: implications from epidemiological and genetic association studies. **Ann Med**, v. 40, n. 3, p. 167-95, 2008.

PRICE, D. K.; CHAU, C. H.; TILL, C.; GOODMAN, P. J.; LEACH, R. J.; JOHNSON-PAIS, T. L.; HSING, A. W.; HOQUE, A.; PARNES, H. L.; SCHENK, J. M.; TANGEN, C. M.; THOMPSON, I. M.; REICHARDT, J. K.; FIGG, W. D. Association of androgen metabolism gene polymorphisms with prostate cancer risk and androgen concentrations: Results from the Prostate Cancer Prevention Trial. **Cancer**, v. 122, n. 15, p. 2332-40, 2016.

REQUEJO, J.; MERIALDI, M.; ALTHABE, F.; KELLER, M.; KATZ, J.; MENON, R. Born too soon: care during pregnancy and childbirth to reduce preterm deliveries and improve health outcomes of the preterm baby. **Reprod Health**, v. 10 Suppl 1, p. S4, 2013.

SALIMI, S.; KHODAMIAN, M.; NAROOIE-NEJAD, M.; HAJIZADEH, A.; FAZELI, K.; NAMAZI, L.; YAGHMAEI, M. Association of polymorphisms and haplotypes in the cytochrome P450 1B1 gene with uterine leiomyoma: A case control study. **Biomed Rep**, v. 3, n. 2, p. 201-206, 2015.

SANKHWAR, M.; SANKHWAR, S. N.; ABHISHEK, A.; GUPTA, N.; RAJENDER, S. CYP1B1 gene polymorphisms correlate with an increased risk of urinary bladder cancer in India. **Urol Oncol**, v. 34, n. 4, p. 167 e1-8, 2016.

SBRANA, M.; GRANDI, C.; BRAZAN, M.; JUNQUERA, N.; NASCIMENTO, M. S.; BARBIERI, M. A.; BETTIOL, H.; CARDOSO, V. C. Alcohol consumption during pregnancy and perinatal results: a cohort study. **Sao Paulo Med J**, v. 134, n. 2, p. 146-52, 2016.

SHEN, Y.; XU, Q.; REN, M.; CAI, Y.; XU, J. Role of single nucleotide polymorphisms in estrogen-metabolizing enzymes and susceptibility to uterine leiomyoma in Han Chinese: a case-control study. **J Obstet Gynaecol Res**, v. 40, n. 4, p. 1077-84, 2014.

SMITH, L. K.; DRAPER, E. S.; EVANS, T. A.; FIELD, D. J.; JOHNSON, S. J.; MANKTELOW, B. N.; SEATON, S. E.; MARLOW, N.; PETROU, S.; BOYLE, E. M. Associations between late and moderately preterm birth and smoking, alcohol, drug use and diet: a population-based case-cohort study. **Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed**, v. 100, n. 6, p. F486-91, 2015.

SPONG, C. Y.; MERCER, B. M.; D'ALTON, M.; KILPATRICK, S.; BLACKWELL, S.; SAADE, G. Timing of indicated late-preterm and early-term birth. **Obstet Gynecol**, v. 118, n. 2 Pt 1, p. 323-33, 2011.

STANG, J.; HUFFMAN, L. G. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Obesity, Reproduction, and Pregnancy Outcomes. **J Acad Nutr Diet**, v. 116, n. 4, p. 677-91, 2016.

SUSSAN, T. E.; SUDINI, K.; TALBOT, C. C., JR.; WANG, X.; WILLS-KARP, M.; BURD, I.; BISWAL, S. Nrf2 regulates gene-environment interactions in an animal model of intrauterine inflammation: Implications for preterm birth and prematurity. **Sci Rep**, v. 7, p. 40194, 2017.

SUZUKI, K.; MINEI, L. J.; JOHNSON, E. E. Effect of nicotine upon uterine blood flow in the pregnant rhesus monkey. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 136, n. 8, p. 1009-1013, 1980.

SZALAI, R.; GANCZER, A.; MAGYARI, L.; MATYAS, P.; BENE, J.; MELEGH, B. Interethnic differences of cytochrome P450 gene polymorphisms may influence outcome of taxane therapy in Roma and Hungarian populations. **Drug Metab Pharmacokinet**, v. 30, n. 6, p. 453-6, 2015.

TABET, M.; JAKHAR, S.; WILLIAMS, C. A.; RAWAT, U.; HAILEGIORGIS, Y. D.; FLICK, L. H.; CHANG, J. J. Racial/Ethnic Differences in Correlates of Spontaneous and Medically-Indicated Late Preterm Births among Adolescents. **J Pediatr Adolesc Gynecol**, v. 30, n. 1, p. 63-70, 2017.

TRUBICKA, J.; GRABOWSKA-KLUJSZO, E.; SUCHY, J.; MASOJC, B.; SERRANO-FERNANDEZ, P.; KURZAWSKI, G.; CYBULSKI, C.; GORSKI, B.; HUZARSKI, T.; BYRSKI, T.; GRONWALD, J.; ZLOWOCKA, E.; KLADNY, J.; BANASZKIEWICZ, Z.; WISNIOWSKI, R.; KOWALSKA, E.; LUBINSKI, J.; SCOTT, R. J. Variant alleles of the CYP1B1 gene are associated with colorectal cancer susceptibility. **BMC Cancer**, v. 10, p. 420, 2010.

TSAI, H. J.; HONG, X.; CHEN, J.; LIU, X.; PEARSON, C.; ORTIZ, K.; HIRSCH, E.; HEFFNER, L.; WEEKS, D. E.; ZUCKERMAN, B.; WANG, X. Role of African ancestry and gene-environment interactions in predicting preterm birth. **Obstet Gynecol**, v. 118, n. 5, p. 1081-9, 2011.

VYHLIDAL, C. A.; RIFFEL, A. K.; HALEY, K. J.; SHARMA, S.; DAI, H.; TANTISIRA, K. G.; WEISS, S. T.; LEEDER, J. S. Cotinine in human placenta predicts induction of gene expression in fetal tissues. **Drug Metab Dispos**, v. 41, n. 2, p. 305-11, 2013.

WAGIJO, M. A.; SHEIKH, A.; DUIJTS, L.; BEEN, J. V. Reducing tobacco smoking and smoke exposure to prevent preterm birth and its complications. **Paediatr Respir Rev**, 2015.

WALDENSTROM, U.; CNATTINGIUS, S.; VIXNER, L.; NORMAN, M. Advanced maternal age increases the risk of very preterm birth, irrespective of parity: a population-based register study. **BJOG**, 2016.

WANG, B.; LI, Z.; MA, Y.; QIU, X.; REN, A. Association of polycyclic aromatic hydrocarbons in housewives' hair with hypertension. **Chemosphere**, v. 153, p. 315-21, 2016.

WHO, W. H. O.-. **Adolescents: health risks and solutions** 2016.

XU, W.; ZHOU, Y.; HANG, X.; SHEN, D. Current evidence on the relationship between CYP1B1 polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis. **Mol Biol Rep**, v. 39, n. 3, p. 2821-9, 2012.

YU, P. J.; CHEN, W. G.; FENG, Q. L.; CHEN, W.; JIANG, M. J.; LI, Z. Q. Association between CYP1B1 gene polymorphisms and risk factors and susceptibility to laryngeal cancer. **Med Sci Monit**, v. 21, p. 239-45, 2015.

ANEXO 1

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RECÔNCAVO DA BAHIA -
UFRB



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Influência dos polimorfismos dos genes FADS no perfil materno de ácidos graxos de cadeia longa e no resultado obstétrico

Pesquisador: Gisele Queiroz Carvalho

Área Temática: Área 1. Genética Humana.
(Trata-se de pesquisa envolvendo genética humana não contemplada acima.);

Versão: 2

CAAE: 11499413.6.0000.0056

Instituição Proponente: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

Patrocinador Principal: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico ((CNPq))

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 241.225

Data da Relatoria: 09/04/2013

Apresentação do Projeto:

"Introdução: O status materno de ácidos graxos de cadeia longa das séries ômega 3 e 6, além de afetar a saúde da mulher, pode trazer implicações no crescimento e no desenvolvimento fetal e infantil. O perfil plasmático de ácidos graxos pode ser influenciado pela alimentação ou por fatores genéticos e metabólicos. Apesar de poucos estudos desenvolvidos com gestantes, estudos sugerem que as variações genéticas nos genes FADS1 e FADS2 influenciam os níveis de ácidos graxos da família ômega 3 e 6 no plasma materno e no leite materno.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar o impacto do perfil de ácidos graxos de cadeia longa e dos polimorfismos do grupo FADS na ocorrência de prematuridade e baixo peso ao nascer.

Objetivos secundários: Avaliar a incidência de inadequação do perfil de ácidos graxos de cadeia longa do plasma entre as gestantes; Avaliar a associação entre o perfil de ácidos graxos de cadeia longa do plasma materno, baixo peso ao nascer e duração da gestação; Avaliar a influência dos polimorfismos de núcleo único (SNP) dos genes dos grupos FADS no perfil plasmático de ácidos graxos de cadeia longa de gestantes, bem como sua

Endereço: S/N

Bairro: S/N

CEP: 44.380-000

UF: BA

Município: CRUZ DAS ALMAS

Telefone: (75)3621-1293

Fax: (75)3621-9767

E-mail: secgab@ufrb.edu.br

relação com o resultado obstétrico

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos para as participantes são mínimos, estando relacionados apenas à coleta de sangue. Todas as medidas serão tomadas para garantir a segurança e a saúde das participantes. A coleta será realizada por um técnico laboratorista treinado, sendo utilizados apenas materiais descartáveis para tal procedimento.

Fatores ambientais e genéticos, nos períodos pré-gestacional e durante a gestação, podem ser determinantes na saúde da criança e da mãe. As alterações na nutrição materna podem influenciar o resultado obstétrico, no que diz respeito à duração da gestação e ao crescimento fetal. Dentre os fatores nutricionais relevantes para o crescimento fetal está o status materno de ácidos graxos de cadeia longa das séries ômega 3 e 6. A literatura

tem demonstrado que a o perfil inadequado de ácidos graxos de cadeia longa (ômega 3 e ômega 6) se relacionam com o resultado obstétrico desfavorável. Esse é um campo de pesquisa interessante e pouco explorado no Brasil, particularmente, no Recôncavo Bahiano. O estudo também pretende avaliar a relação entre os diferentes alelos dos genes das dessaturases no perfil plasmático de ácidos graxos de cadeia longa em gestantes, bem como sua influência no resultado obstétrico. Isso porque, o estado de saúde de um indivíduo é resultado de interações entre o genoma e fatores ambientais, que modulam e afetam a expressão de proteínas diversas e a liberação celular de diferentes neurotransmissores, hormônios, prostaglandinas e interleucinas. Esta linguagem celular atua alterando a expressão gênica em diversos locais, modificando a síntese proteica e a função de muitos órgãos e sistemas (Vaquero, 2008). Um marco no estudo das variáveis genéticas foi o desenvolvimento do projeto Genoma. A partir de então, foi possível avaliar a presença de polimorfismos de uma série de genes e sua relação com as alterações metabólicas e

fisiológicas individuais. Os estudos com polimorfismos permitem o diagnóstico precoce de fatores de risco para o desenvolvimento de doenças. Os fatores ambientais, dentre eles a alimentação, podem ser considerados fatores protetores ou de risco, dependendo do tipo de polimorfismo presente.

Assim, espera-se que, em gestantes, a utilização de marcadores moleculares seja útil na prevenção do desenvolvimento de complicações durante a gestação, parto e puerpério, além de auxiliar na garantia de condições favoráveis para a sugerem que as variações genéticas nos genes FADS1 e FADS2 influenciam os níveis de ácidos graxos da família ômega 3 e 6 no plasma materno e no leite materno. Os estudos são importantes, tendo em vista que as variações genéticas podem influenciar na transferência materna de ácidos graxos essenciais durante a gestação e o aleitamento materno (Xie e Innis, 2008). Parece claro que, após análise dos resultados desses

Endereço: S/N

Bairro: S/N

CEP: 44.380-000

UF: BA

Município: CRUZ DAS ALMAS

Telefone: (75)3621-1293

Fax: (75)3621-9767

E-mail: secgab@ufrb.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RECÔNCAVO DA BAHIA -
UFRB



estudos, a combinação entre o genótipo FADS da mãe e da criança, associado com as características da dieta materna, pode ser um ponto chave no desenvolvimento e na saúde da criança (Moltó-Puigmartí et al., 2010). Koletzko et al. (2011) também discutiram sobre a necessidade de mais estudos que avaliem a associação entre os genótipos FADS, níveis de DHA, e desenvolvimento infantil, a fim de se verificar a relevância biológica dos níveis de ácidos graxos gene-dependentes. Outros fatores ainda precisam ser estudados à luz dos novos conhecimentos relacionados com o campo da genética no perfil materno e infantil de ácidos graxos de cadeia longa, dentre eles a duração da gestação e a correlação com a perda fetal/número de abortos. Espera-se que novos estudos sejam conduzidos de modo a permitir melhor conhecimento nesse campo, considerando, ainda, os fatores relacionados com o perfil genético de populações específicas. Ainda são escassos os estudos genéticos com a população brasileira, em especial, a população gestante do Recôncavo da Bahia.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo se mostra relevante, pois busca avaliar o impacto do perfil de ácidos graxos de cadeia longa e dos polimorfismos do grupo FADS na ocorrência de prematuridade e baixo peso ao nascer, temática importante e que suscita discussões.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto encontra-se em acordo com a Res. 196/96 CNS2012.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto encontra-se em acordo com a Res. 196/96 CNS2012.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: S/N
Bairro: S/N CEP: 44.380-000
UF: BA Município: CRUZ DAS ALMAS
Telefone: (75)3621-1293 Fax: (75)3621-9767 E-mail: secgab@ufrb.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RECÔNCAVO DA BAHIA -
UFRB



CRUZ DAS ALMAS, 09 de Abril de 2013

Assinador por:
Cintia Mota Cardeal
(Coordenador)

Endereço: S/N

Bairro: S/N

CEP: 44.380-000

UF: BA

Município: CRUZ DAS ALMAS

Telefone: (75)3621-1293

Fax: (75)3621-9767

E-mail: secgab@ufrb.edu.br

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

Você está sendo convidada a participar como voluntária da pesquisa: **“Influência dos polimorfismos dos genes FADS no perfil materno de ácidos graxos de cadeia longa e no resultado obstétrico”**. Este estudo tem como finalidade o conhecimento de informações genéticas e do perfil de ácidos graxos no sangue materno, os quais podem influenciar no crescimento e desenvolvimento da criança ao nascer. Espera-se que este estudo auxilie no conhecimento sobre os fatores que podem influenciar no crescimento e desenvolvimento da criança ao nascer.

Os procedimentos que serão adotados na pesquisa são resumidos em: aplicação de questionários para obtenção de dados socioeconômicos e de estilo de vida; aplicação de inquérito dietético; avaliação antropométrica, por métodos não invasivos, da mãe (peso, estatura, circunferências abdominal) e da criança após o nascimento (peso, comprimento, circunferência cefálica); realização de exames laboratoriais para análise genética e do perfil de ácidos graxos de cadeia longa. Para a realização dos exames laboratoriais serão coletados aproximadamente 10 mL de sangue da veia do braço. O sangue coletado será armazenado até o término da pesquisa, para garantir a existência de amostra caso haja necessidade de repetir algumas avaliações que possam conter erros, inconsistências, ou discordâncias. Após finalizadas as atividades, o material será descartado.

As avaliações ocorrerão em dois momentos: o primeiro durante a gestação (até a 30ª semana gestacional), nas unidades de saúde ou clínicas, quando serão realizadas as avaliações antropométricas, bioquímicas e genéticas, e aplicado um questionário contendo informações socioeconômicas e demográficas, estado nutricional, consumo de medicamentos, e consumo de alimentos. O segundo momento ocorrerá após o parto, na maternidade ou em visitas domiciliares. Nessa etapa serão avaliadas as informações referentes ao recém-nascido (perinatal) e avaliação antropométrica da mãe.

Os resultados dos exames laboratoriais e os dados de saúde e nutrição da participante serão disponibilizados individualmente, em até um mês após cada uma das duas etapas, no ambulatório de nutrição materno infantil da UFRB, localizado no CENTROSJ. A entrega dos resultados será feita após agendamento do dia e horário.

A população de estudo será constituída por mulheres clinicamente saudáveis, residentes e domiciliadas na zona urbana, com dezoito anos ou mais de idade, com idade gestacional menor ou igual a 30 semanas no momento da primeira entrevista, inscritas em serviços de pré-natal do SUS e privado. Serão excluídas as mulheres com gestação múltipla, as HIV positivas e as sem confirmação ultra-sonográfica da idade gestacional.

Não haverá nenhum tipo de intervenção que possa causar danos à saúde da criança ou da gestante. A participação é voluntária, e a gestante tem o direito de abandonar o estudo a qualquer momento sem justificativa. Em relação aos benefícios relacionados à participação, os resultados dos exames laboratoriais serão disponibilizados em via impressa e a equipe de saúde da família e as gestantes. Nos casos de deficiência nutricionais, a gestante será encaminhada para profissional médico da rede básica e nutricionista do Núcleo de Apoio a Saúde da Família e acompanhadas pela equipe de estudo.

Os riscos para as participantes podem estar relacionados à coleta de sangue, a presença de desconforto ou constrangimentos em função da aplicação do questionário, do tempo necessário para sua aplicação, a realização do exame físico, e a o entendimento sobre o resultado da informação genética. Para minimizar os riscos, todas as medidas serão tomadas para garantir a segurança e a saúde das participantes. A coleta sanguínea será realizada por um técnico laboratorista treinado, sendo utilizados apenas materiais descartáveis para tal procedimento. Para a aplicação dos questionários e a realização dos exames físicos, os alunos responsáveis por essa etapa serão treinados, a fim de que as atividades sejam mais ágeis/eficientes, e que se evitem expressões, gestos ou atitudes que causem possíveis constrangimentos às participantes. Ainda, as informações obtidas serão resguardadas, sendo informadas apenas à paciente. Além disso, os resultados das análises genéticas serão informados em linguagem simples e acessível, e explicada por profissional com ampla experiência nesse assunto em especial. Quando necessário, as participantes poderão ser encaminhadas para acompanhamento médico específico.

A realização desse estudo também propiciará benefícios às gestantes e às crianças, pois possibilitará o conhecimento, pela gestante, do seu estado de saúde geral, alimentação e nutrição durante a gravidez, bem como da criança ao nascer. Também possibilitará que a gestante identifique possíveis alterações genéticas que podem interferir na saúde da criança.

Os dados obtidos estarão disponíveis para a equipe envolvida na pesquisa e poderão ser publicados com a finalidade de divulgação das informações científicas obtidas, não sendo divulgada a identidade dos voluntários.

Informamos também que os materiais utilizados para a coleta de dados, serão guardados durante cinco anos pelas pesquisadoras-responsáveis.

Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto são Prof^ª. Gisele Queiroz Carvalho e Djanilson Barbosa dos Santos, e com eles poderei manter contato pelo endereço e o telefone:

Endereço: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – Centro de Ciências da Saúde

Avenida Carlos Amaral, nº 1015. Bairro: Cajueiro CEP:44570-000 Santo Antônio de Jesus - BA

Fone: (75) 3632- 4598.

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFRB

Endereço: Rua Rui Barbosa, 710, Campus Universitário, Centro, Cruz das Almas. CEP 44.380-000.

Telefone: (75) 3621-6850 **E-mail:** eticaempesquisa@ufrb.edu.br

De posse de todas as informações necessárias, concordo em participar do projeto, manifesto meu livre consentimento em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por minha participação.

Santo Antônio de Jesus, ____ de _____ de 20__.

Voluntário

Djanilson Barbosa dos Santos
Prof. Adjunto da UFRB

Gisele Queiroz Carvalho
Nutricionista: CRN 4168

ANEXO 3

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Questionário sobre fatores maternos de risco e desfechos gestacionais

Nº do Questionário

--	--	--	--

Meu nome é _____. Estamos fazendo um acompanhamento de todas as mulheres grávidas até o 1º ano de vida do neném. Isso é feito para saber melhor como a Sra. e seu neném estão durante a gravidez. Convide-a para participar da pesquisa e responder o questionário. Em caso afirmativo, apresente o termo de consentimento livre e esclarecido, e se necessário leia para a gestante e colete assinatura ou impressão digital. Se a gestante não aceitar participar, agradeça a atenção e encerre. Se a gestante aceitar participar, apresente o TCLE e pegue a assinatura (em duas vias, uma fica com ela)/digital. LEMBRE-SE, se a gestante estiver no 1º trimestre de gestação agendar a visita domiciliar.

Horário de Início: _____ :

PRONTUÁRIO Nº _____ SIS-PRÉNATAL Nº _____

Gostaríamos de preencher um cadastro com seu endereço, pois será necessário entrar em contato novamente.

Nome: _____
 Endereço completo: _____
 Bairro: _____
Como se chega lá? _____

 Telefone de contato: _____ Apelido: _____

Qual é o nome de sua mãe?

Nome: _____
 Endereço completo: _____
 Bairro: _____
Como se chega lá? _____

 Telefone de contato: _____ Apelido: _____

Se tiver companheiro, por favor informe:

Nome: _____
 Endereço completo: _____
 Bairro: _____
Como se chega lá? _____

 Telefone de contato: _____ Apelido: _____

O nome completo de outro parente ou amigo (a) sua? Alguém que, no caso da Sra. se mudar, possa nos dar informações e notícias suas?

Nome: _____
 Endereço completo: _____
 Bairro: _____
Como se chega lá? _____

 Telefone de contato: _____ Apelido: _____

CONTROLE DE VISITAS

UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE			
VISITAS	DATA	HORA	ENTREVISTADOR
1	___/___/201		
2	___/___/201		
3	___/___/201		

Características sócio-demográficas

1. A SENHORA ESTÁ COM QUANTAS SEMANAS GESTACIONAIS: _____ semanas
(TRIMESTRE DA ATUAL GESTAÇÃO: 1° 2° 3°)

DUM: ___/___/___ (verificar e confirmar com o cartão da gestante) NSA (99)

ENTREVISTADOR: Lembre-se, se a gestante estiver no 1º trimestre de gestação agendar a visita domiciliar. Por favor, retorne ao controle de visitas e agende!

2. QUAL A SUA DATA DE NASCIMENTO? ___/___/___ (se a gestante não souber, precisa verificar algum documento)
Dia Mês Ano

3. QUAL É SUA IDADE? _____ Anos 4. QUAL A IDADE DO PAI DO BEBÊ? _____ Anos Não Sabe (88)

5. A SENHORA PLANEJOU ESTA GRAVIDEZ? Sim (1) Não (2)

6. A SENHORA ESTAVA USANDO ALGUM MÉTODO ANTICONCEPCIONAL? Sim (1) Não (2)

7. SE SIM, QUAL? (ler as alternativas) Pílula/comprimido (1) Injeção hormonal (2) Pílula do dia seguinte (3)
 DIU (4) Diafragma (5) Coito Interrompido (6) Laqueadura (7) Vasectomia (8) Tabela (9) Preservativo (10)
 NSA (99)

8. A SENHORA ESTUDOU/ESTUDA? Sim (1) Não (2) (pule para questão 10)

9. ATÉ QUE ANO DA ESCOLA A SENHORA COMPLETOU? Total de anos de estudo: _____ NSA (99)

-1. Não sabe ler nem escrever -2. Ensino fundamental incompleto -3. Ensino fundamental completo
 -4. Ensino médio incompleto -5. Ensino médio completo -6. Superior incompleto
 -7. Superior completo -8. Pós-graduação -9. Não sabe NSA (99)

10. A SENHORA É (ler as alternativas)

solteira (1) casada (2) (pule para o item 12) mora com companheiro (3) (pule para o item 12) divorciada (4) viúva (5)
 separada (6)

11. TEM COMPANHEIRO: sim (1) não (2) NSA (99)

13. OCUPAÇÃO/PROFISSÃO DO COMPANHEIRO: _____ NSA (99)

14. SITUAÇÃO EMPREGO: ativa (1) desempregada (2) do lar (3) estudante (4) aposentada (5)
 licença maternidade/tratamento (6) NSA (99)

15. ÚLTIMA PROFISSÃO EXERCIDA: _____ NSA (99)

16. COMO A SENHORA SE DESLOCA/DESLOCAVA PARA O TRABALHO?
 a pé (1) bicicleta (2) veículo (3) outro (4) Especificar: _____

17. NO MÊS PASSADO, QUANTO GANHARAM* TODAS AS PESSOAS QUE MORAM NA SUA CASA? _____ NSA (99)

18. RENDA FAMILIAR (ler as alternativas) ≤ 1SM (1) 1-2 SM (2) 2-4 SM (3) 5-7 SM (4) ≥ 8 SM (5) NSA (99)

19. QUANTAS PESSOAS MORAM NA SUA CASA, INCLUINDO A SENHORA? _____

Salário Mínimo: R\$ 724,00

20. QUAL É A RELIGIÃO DA SENHORA?

- Católica (1) Protestante (2) Espírita (3) Religiões de matrizes africanas/brasileiras (4) Sem religião (5) Outras (6)
 Não Sabe (88)

ENTREVISTADOR: MARQUE A COLUNA CORRESPONDENTE À QUANTIDADE DE ITENS QUE TEM NO DOMICÍLIO.					
POSSE DE ITENS	QUANTIDADE DE ITENS				
	0	1	2	3	4 ou +
1. Televisão a cores	0	1	2	3	4
2. Rádio	0	1	2	3	4
3. Banheiro (com vaso sanitário e descarga)	0	4	5	6	7
4. Automóvel (não considerar se for para uso profissional/meio de renda)	0	4	7	9	9
5. Empregada mensalista (que trabalham pelo menos cinco dias por semana)	0	3	4	4	4
6. Máquina de lavar (não considerar tanquinho, se responder assim)	0	2	2	2	2
7. DVD	0	2	2	2	2
8. Geladeira	0	4	4	4	4
9. Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira)	0	2	2	2	2

Grau de instrução da pessoa com maior renda

Analfabeto/primário incompleto/Até 3ª série do ensino fundamental	0
Primário completo/Ginásial incompleto/Até 4ª série do ensino fundamental	1
Ginásial completo/Colegial incompleto/Fundamental completo	2
Colegial completo/Superior incompleto/Médio completo	4
Superior completo	8

Deve ser preenchido pelo digitador:

Total de pontos: () Classe A () Classe B () Classe C () Classe D () Classe E ()

Obs: Classe A 35-45 Classe B 23-34 Classe C 14-22 Classe 8 -13 Classe E 0-7

21. EM SUA OPINIÃO COMO É QUE A SENHORA DEFINIRIA A COR DA SUA PELE? (ler as alternativas)

- 1 Amarela -2 Branca -3 Parda -4 Preta -5 Indígena Não sabe (88)

22. A SENHORA FUMA OU JÁ FUMOU?

- Sim (1) (ler alternativas) Sim, mas parei (2) (pula p/ questão 23) Não, nunca fumou (3) (pule p/ questão 24)

Situação da fumante	
<input type="checkbox"/> A Sra. fumava antes da gravidez e continua fumando (1) Fuma a quanto tempo? _____ <input type="checkbox"/> NSA (99)	Quantos cigarros por dia? <input type="checkbox"/> NSA (99)
<input type="checkbox"/> A Sra. não fumava antes da gravidez e passou a fumar na gestação (2) (Pule p/ questão 24) <input type="checkbox"/> NSA (99)	Quantos cigarros por dia? <input type="checkbox"/> NSA (99)

23. A SENHORA FUMAVA ANTES DA GRAVIDEZ E PAROU? sim (1) não (2) NSA (99)

Por quanto tempo fumou? _____ NSA (99)

A quanto tempo deixou de fumar? _____ NSA (99)

24. A SENHORA TOMA OU TOMOU ALGUMA VEZ BEBIDA ALCOÓLICA? (ler as alternativas)

- sim (1) não (2) sim, mas parei (3)

25. SE SIM, MAS PAREI. QUANDO PAROU? (ler as alternativas)

- Parou há mais de 6 meses (1) Parou há 6 meses ou menos (2) NSA (99)

26. SE SIM: NO ÚLTIMO MÊS, QUANTAS VEZES A SENHORA BEBEU? (ler as alternativas)

- nenhuma vez (1) menos de uma vez/sem (2) uma vez/sem (3) mais de uma vez/sem (4) todos os dias (4) NSA (99)

27. OUTRAS DROGAS? Sim (1) Não (2) NSA (99) Se sim, especificar o tipo: _____ NSA (99)

(se não pular p/ questão 30)

28. Você usou durante a gestação? sim (1) não (2) NSA (99)

29. Quanto tempo, durante a gestação? Raramente (0) 2 a 3 dias /sem. (2) 1 dia/sem. (1) todo dia ou quase todo dia (3) NSA (99)

30. A SENHORA RECEBE ALGUM BENEFÍCIO/AUXÍLIO DO GOVERNO? Sim (1) Não (2) (se não pular p/ questão 34)

31. **SE SIM**, QUAL? _____ NSA (99) 32. HÁ QUANTO TEMPO? _____ Não sabe(88) NSA (99)

33. DATA DO INÍCIO DO RECEBIMENTO: ____/____/____ Não sabe (88) NSA (99)

INFORMAÇÕES NUTRICIONAIS

Agora vou fazer algumas perguntas sobre seu peso e alimentação – VERIFIQUE O CARTÃO DA GESTANTE

34. QUAL ERA O SEU PESO ANTES DE FICAR GRÁVIDA? (anotar em Kg) |__||__||__|,|__| Não sabe (88)

35. A SENHORA FOI PESADA HOJE? Sim (1) Não (2) (se não pular p/ questão 41)

36. **SE SIM**, QUAL O PESO? (anotar em kg) |__||__||__|,|__| NSA (99)

37. A SENHORA FOI PESADA EM TODAS AS CONSULTAS ANTERIORES? sim (1) não (2) NSA (99)

38. NAS CONSULTAS DE PRÉ-NATAL, FALARAM PARA SENHORA COMO ESTAVA O SEU GANHO DE PESO?
 não falaram nada (1) disseram que estava com baixo peso (2) disseram que estava com peso adequado (3)
 disseram que estava com sobrepeso (4) disseram que estava com obesidade (5)

39. QUAL É A SUA ALTURA? (anotar em metros) |__|,|__||__| (verificar o cartão da gestante) Não sabe (88)

ENTREVISTADOR: PARA AS QUESTÕES 44 E 45 PODEM TER RESPOSTAS MÚLTIPLAS

40. NESTA USF A SENHORA RECEBEU ALGUMA ORIENTAÇÃO ALIMENTAR E NUTRICIONAL? (ler as alternativas)
 sim (1) não (2). **SE SIM, QUEM?** Nutricionista (1) Enfermeiro (2) Médico (3) Outro (5) _____ NSA (99)

41. NESTA USF A SENHORA RECEBEU ALGUMA ORIENTAÇÃO SOBRE ALEITAMENTO MATERNO?
 sim (1) não (2). **SE SIM, QUEM?** Nutricionista (1) Enfermeiro (2) Médico (3) Outro (5) _____ NSA (99)

INFORMAÇÕES GINECOLOGICO-OBSTETRICA

Agora vou fazer algumas perguntas sobre sua HISTÓRIA OBSTÉTRICA ANTERIOR

42. QUANDO FOI A SUA PRIMEIRA MENSTRUÇÃO? MENARCA: _____ ANOS Não sabe (88)

43. SEM CONTAR COM ESTA GRAVIDEZ, QUANTAS VEZES A SENHORA FICOU GRÁVIDA? |__||__|

44. A SENHORA JÁ TEVE ALGUM ABORTO OU PERDEU O NENÉM ANTES DE NASCER? sim (1) não (2) (pular para questão 49) NSA (99)

45. **SE SIM**, QUANTOS? |__||__| NSA (99) 46. A SRA. TIROU OU FOI NATURAL? |__||__| TIROU NSA (99)
|__||__| NATURAL NSA (99)

47. TEVE HEMORRAGIA NO ÚLTIMO ABORTO? sim (1) não (2) NSA (99)

48. TOMOU TRANSFUSÃO DE SANGUE NO ÚLTIMO ABORTO? sim (1) não (2) NSA (99)

49. QUANTOS FILHOS NASCERAM? vivos _____ mortos _____ NSA (99)

50. NÚMERO DE PARTOS: _____ VAGINAIS _____ CESARIANAS NSA (99)

51. A DATA DO NASCIMENTO DO ÚLTIMO FILHO ____/____/____ menos de dois anos (1) mais de dois anos (2) NSA (99)

52. A SRA. AMAMENTOU NO PEITO O ÚLTIMO BEBÊ? sim (1) não (2) NSA (99) 53. **SE SIM**, ATÉ QUE MÊS
|__||__| meses NSA (99)

54. ALGUM DE SEUS FILHOS TEVE PROBLEMAS RESPIRATÓRIOS? sim (1) não (2) NSA (99) (se não pular p/ questão 56)

55. **SE SIM**, QUANTOS? |__||__| NSA (99)

56. ALGUM RECÉM-NASCIDO NASCEU COM MENOS DE 2.500G? sim (1) não (2) NSA (99)

57. ALGUM FILHO NASCEU PREMATURO? sim (1) não (2) NSA (99)

58. A SENHORA TEVE ALGUMA GRAVIDEZ DE GEMELAR? sim (1) não (2) NSA (99)

59. ONDE A SENHORA TEVE SEU ÚLTIMO BEBÊ (local do último parto)? _____ NSA (99)

60. A SENHORA FEZ AS CONSULTAS DEPOIS DO PARTO? sim (1) não (2) NSA (99)

61. A SENHORA TEVE ALGUMA HEMORRAGIA NO ÚLTIMO PARTO? sim (1) não (2) NSA (99)

62. A SENHORA RECEBEU ALGUM SANGUE NO ÚLTIMO PARTO? (transfusão de sangue) sim (1) não (2) NSA (99)

63. A SENHORA TEVE ANEMIA NA ÚLTIMA GRAVIDEZ? sim (1) não (2) NSA (99) (se não pular p/ questão 65)

64. SE SIM, FEZ TRATAMENTO? sim (1) não (2) NSA (99)

INFORMAÇÕES GINECOLOGICO-OBSTETRICA

Agora vou fazer algumas perguntas sobre sua **HISTÓRIA OBSTÉTRICA DA ATUAL GRAVIDEZ**

65. IDADE GESTACIONAL (DUM): ___ / ___ / ___ (verificar e confirmar com o cartão da gestante) NSA (99)

66. VOCÊ TEM FEITO PRÉ-NATAL NESTA GRAVIDEZ (ATUAL)? sim (1) não (2)

67. COM QUANTOS MESES DE GRAVIDEZ FEZ A 1ª CONSULTA ? _____ NSA (99)

68. QUANTAS CONSULTAS DE PRÉ-NATAL A SENHORA JÁ REALIZOU NESTA GESTAÇÃO? _____ consultas

69. A SENHORA REALIZOU ALGUMA USG sim (1) não (2)

70. SE SIM, QUANTAS? _____ NSA (99)

71. IDADE GESTACIONAL DA USG, DE PRIMEIRO TRIMESTRE: _____ SEMANAS _____ DIAS NSA (99)

72. A DATA DA PRIMEIRA USG ___ / ___ / ___ (1º 2º 3º) NSA (99)

72. A SENHORA TEM ALGUM DESSES PROBLEMAS? (ler as alternativas)

ANEMIA sim (1) não (2) ASMA sim (1) não (2) TUBERCULOSE sim (1) não (2)

PNEUMONIA sim (1) não (2) DIABETES sim (1) não (2) HIPERTENSÃO sim (1) não (2)

DOENÇA RENAL sim (1) não (2) DIFICULDADE DE ADAPTAR VISÃO À NOITE sim (1) não (2)

INFECÇÃO NA URINA sim (1) não (2) HEMORRAGIA/SANGRAMENTO sim (1) não (2)

ALTERAÇÃO GLICÊMICA sim (1) não (2) OUTROS sim (1) não (2) _____

73. A SENHORA PRECISOU FICAR INTERNADA POR ALGUM DOS MOTIVOS CITADOS? sim (1) não (2)

74. NESTA GESTAÇÃO, A SENHORA ESTÁ COM ALGUM SINTOMA/QUEIXA? sim (1) (ler as alternativas) não (2)

náuseas/enjôo (1) vômitos (2) dor (3) febre (4) gases (5) azia (6) inflamação (7)

prisão de ventre (8) dor de cabeça (9) Cólica abdominal (10) Diarreia Falta de apetite(11) outras (12)

75. SE OUTRAS, QUAIS? _____ NSA (99)

76. EM GERAL, COMO TEM SIDO A SAÚDE DA SENHORA NOS ÚLTIMOS 15 DIAS? (ler as alternativas)

Excelente (1) Muito boa (2) Boa (3) Ruim (4) Muito ruim (5)

77. A SENHORA ESTÁ TOMANDO ALGUMA VITAMINA? sim (1) não (2)

78. A SENHORA TOMOU A VACINA ANTI-TETANICA sim (1) não (2)

79. SE SIM, QUANTAS DOSES? Primeira (1) Segunda (2) Terceira (3) Reforço (4)

EXAMES LABORATORIAIS

Agora vamos verificar algumas informações no prontuário da paciente

Exames	Data	Resultado	Data	Resultado
Hemoglobina: (mg/dL)				
Glicemia: (mg/dL)				

80. USA SUPLEMENTO ALIMENTAR? () Sim () Não SE SIM, QUAL? RESPOSTA: _____

EXPOSIÇÃO SOLAR

Agora vamos fazer algumas perguntas sobre a sua exposição solar NESTA GESTAÇÃO

81. COM QUE FREQUÊNCIA A SENHORA TOMA SOL?

4-6x por semana (0) 3-4x por semana(1) 1-3x por semana (2) Pouca exposição solar (3) Outra (4) _____

