

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

Orcione Ferreira Guimarães Júnior

Avaliação da expressão de componentes do Sistema Renina-Angiotensina (SRA) na placenta e no tecido adiposo de gestantes com obesidade e sua correlação com parâmetros clínico, laboratoriais, antropométricos e histológicos

**Montes Claros – Minas Gerais
2023**

Orcione Ferreira Guimarães Júnior

Avaliação da expressão de componentes do Sistema Renina-Angiotensina (SRA) na placenta e no tecido adiposo de gestantes com obesidade e sua correlação com parâmetros clínico, laboratoriais, antropométricos e histológicos

Dissertação para o Mestrado Acadêmico apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências em Saúde (PPGCS) da Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes) em parceria com o Instituto de Pesquisa e Extensão (INPES), como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: “Mecanismos e Aspectos Clínicos das Doenças”

Orientador(a): Prof. Dr. João Marcus Oliveira Andrade

**Montes Claros – Minas Gerais
2023**

G963a

Guimarães Júnior, Orcione Ferreira.

Avaliação da expressão de componentes do sistema Renina-Angiotensina (SRA) na placenta e no tecido adiposo de gestante com obesidade e sua correlação com parâmetros clínicos, laboratoriais, antropométricos e histológicos [manuscrito] / Orcione Ferreira Guimarães Júnior – Montes Claros (MG), 2023.

31 f. : il.

Inclui bibliografia.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde /PPGCS, 2023.

Orientador: Prof. Dr. João Marcus Oliveira Andrade.

1. Obesidade. 2. Obesidade em mulheres. 3. Gravidez. 4. Grávidas. 5. Sistema Renina-angiotensina. 6. Inflamação. I. Andrade, João Marcus Oliveira. II. Universidade Estadual de Montes Claros. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS - UNIMONTES

Reitor: Wagner de Paulo Santiago

Vice-reitor: Dalton Caldeira Rocha

Pró-reitora de Pesquisa: Maria das Dores Magalhães Veloso

Coordenadoria de Acompanhamento de Projetos: Otávio Cardoso Filho

Coordenadoria de Iniciação Científica: Sônia Ribeiro Arrudas

Coordenadora de Inovação Tecnológica: Sara Gonçalves Antunes de Souza

Pró-reitora de Pós-graduação: Marlon Cristian Toledo Pereira

Coordenador de Pós-graduação Lato-sensu: Cristiano Leonardo de Oliveira Dias

Coordenador de Pós-graduação Stricto-sensu: Diego Dias Araújo

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Coordenadora: Cristina Andrade Sampaio



GOVERNO DO ESTADO DE MINAS GERAIS

Universidade Estadual de Montes Claros

Mestrado e Doutorado em Ciências da Saúde

Anexo nº Folha de Aprovação ORCIONE FERREIRA G. JUNIOR/UNIMONTES/PRPG/PPGCS/2023

PROCESSO Nº 2310.01.0005405/2023-15

Folha Aprovação

DATA DA DEFESA: 29/03/2023 às 08:00 - webconferência, via plataforma Google Meet

NOME DO(A) DISCENTE: ORCIONE FERREIRA GUIMARAES JUNIOR

(x) Mestrado Acadêmico em Ciência Da Saúde

() Doutorado Acadêmico em Ciências Da Saúde

TÍTULO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO (TCC):

"AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE COMPONENTES DO SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA (SRA) NA PLACENTA E NO TECIDO ADIPOSEO DE GESTANTES COM OBESIDADE E SUA CORRELAÇÃO COM PARÂMETROS CLÍNICO, LABORATORIAIS, ANTROPOMÉTRICOS E HISTOLÓGICOS"

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Mecanismos e A. Clínicos das doenças

LINHA DE PESQUISA: Etiopatogenia e Fisiopatologia das Doenças

BANCA (TITULARES)

Prof. Dr. João Marcus Oliveira Andrade - Orientador (participação à distância por videoconferência)

Profª. Drª. Carla Silvana de Oliveira e Silva (participação à distância por videoconferência)

Profª. Drª. Alanna Fernandes Paraíso (participação à distância por videoconferência)

BANCA (SUPLENTE)

Profª. Drª. Andréa Maria Eleutério de Barros Lima Martins

Prof. Dr. Marcos Vinícius Macedo

A análise realizada pelos membros examinadores da presente defesa pública de TCC teve como resultado parecer de:

APROVAÇÃO **REPROVAÇÃO**



Documento assinado eletronicamente por **João Marcus Oliveira Andrade, Professor(a)**, em 23/04/2023, às 13:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6o, § 1o, do [Decreto no 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carla Silvana de Oliveira e Silva, Professor(a)**, em 24/04/2023, às 07:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6o, § 1o, do [Decreto no 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alanna Fernandes Paraíso, Usuário Externo**, em 28/04/2023, às 16:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6o, § 1o, do [Decreto no 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

http://sei.mg.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **62920858** e o código CRC **E3292A11**.

Referência: Processo no 2310.01.0005405/2023-15 SEI no 62920858

AGRADECIMENTOS

Há várias pessoas, que muito tenho a agradecer pela conclusão dessa etapa em minha, sobretudo em virtude disso ter acontecido em um momento tão difícil, devido a pandemia de COVID-19, que tantas vidas ceifou e impactou, para além da conjuntura global, no andamento adequado de nossos trabalhos. Contudo, com as pessoas certas e o esforço conjunto, tudo foi possível.

Quero começar agradecendo aos professores do PPGCS da Unimontes, pelas brilhantes explicações ao longo do curso, que nós muniram do conhecimento necessário, pois sem vocês o primeiro passo desta dissertação, ou seja, a base de todo o conhecimento que adquirimos, não seria possível.

De fundamental importância, queria agradecer ao meu orientador, o professor João Marcus Oliveira Andrade, que aceitou a minha orientação, para muito agrado meu. Sei que, principalmente devido ao cargo que ocupa como, viu também o seu trabalho duplicado com a pandemia e mesmo assim, não deixou até de doar os seus fins de semana para rever cada vírgula da minha dissertação, sempre com muita serenidade e eficiência. Por isso, agradeço todo o tempo precioso, o conhecimento compartilhado e a paciência ímpar que despendeu para comigo.

Por fim, um agradecimento mais que especial a minha esposa Ludimila Matos e a meus filhos que mim incentivaram desde o início da minha inscrição nesse mestrado e se privaram de muitos momentos de lazer em família para que hoje eu conseguisse estar aqui realizando esse sonho e concluindo essa etapa tão importante em minha vida profissional

.

RESUMO

A obesidade materna tem apresentado incremento nas taxas de prevalência nas últimas décadas, especialmente devido mudanças de estilo de vida, como sedentarismo e dietas hipercalóricas. Tem associação com desfechos materno-fetais desfavoráveis e pode impactar no desenvolvimento da prole na vida adulta, predispondo a obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares. A obesidade influencia fortemente do fenotípico de diversos tecidos corporais, sobretudo devido a produção de adipocinas, que fazem localmente e à distância, modulando diversos processos fisiopatológicos, como resistência à insulina e inflamação. O Sistema Renina-Angiotensina (SRA) compreende uma cascata peptídica, constituída por diversos componentes expressos em muitos tecidos corporais. O presente estudo teve como objetivo avaliar a expressão de componentes do SRA nos tecidos placentário e adiposo branco (omento) de mulheres com ou sem obesidade e correlacionar seus níveis com parâmetros antropométricos, clínicos e laboratoriais e histológicos. Para tanto, foi realizado um estudo transversal analítico com mulheres atendidas em uma maternidade pública na cidade de Vitória da Conquista, Bahia, Brasil. Foram 39 participantes divididas em dois grupos: a) sem obesidade (n=18) e com obesidade (n=21). Para as gestantes foram coletadas informações clínicas e laboratoriais do cartão de pré-natal e do prontuário médico. Para os recém-nascidos foram obtidas amostras antropométricas. Ademais, foram coletadas amostras de tecido placentário e omento maior obtidas no momento do parto. Para essas amostras, houve um único médico obstetra coletor. A expressão de marcadores do SRA, Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) e ECA2 foi mensurada por qRT-CPR. Ainda, as amostras teciduais foram submetidas à análise histológica e realizada a contagem de células inflamatórias. Os resultados mostraram maior expressão de ECA e menor expressão de ECA2 na placenta e no tecido adiposo no grupo de mulheres com obesidade. Na análise de correlação entre os níveis de ECA e ECA2 entre os tecidos, não evidenciou diferença estatisticamente significativa. Por conseguinte, as análises de correlação entre as variáveis clínicas, laboratoriais e antropométricas materno-fetais e os níveis de expressão de ECA e ECA2 no tecido adiposo não mostraram associação estatisticamente significativa. Já para a placenta, foram observadas correlação negativa entre os níveis de expressão de ECA2 e IMC pré-gestacional ($r=-0.351$; $p=0.029$) e colesterol total ($r=-0.364$; $p=0.024$). Por fim, não foi observada diferença estatisticamente significativa no percentual de células inflamatórias na placenta e tecido adiposo; ademais, também não se observou correlação entre os níveis de expressão de ECA e ECA2 com o percentual de células inflamatórias na placenta e tecido adiposo. Conclui-se que a obesidade materna pode modular a expressão de componentes do SRA, interferindo em parâmetros, como IMC pré-gestacional e níveis de colesterol total. Ademais, níveis de ECA e ECA2 não estiveram associados à contagem tecidual de células inflamatórias.

Palavras-chave: Obesidade. Obesidade materna. Sistema Renina-Angiotensina. Inflamação.

ABSTRACT

Maternal obesity has shown an increase in prevalence rates in recent decades, especially due to lifestyle changes, such as a sedentary lifestyle and hypercaloric diets. It is associated with unfavorable maternal-fetal outcomes and may impact the development of offspring in adult life, predisposing them to obesity, diabetes, and cardiovascular diseases. Obesity strongly influences the phenotype of various body tissues, mainly due to the production of adipokines, which are produced locally and remotely, modulating various pathophysiological processes, such as insulin resistance and inflammation. The Renin-Angiotensin System (RAS) comprises a peptide cascade, made up of several components expressed in many body tissues. The present study aimed to evaluate the expression of RAS components in the placental and white adipose (omentum) tissues of women with or without obesity and to correlate their levels with anthropometric, clinical, laboratory, and histological parameters. For that, an analytical cross-sectional study was carried out with women who a public maternity hospital in the city of Vitória da Conquista, Bahia, Brazil. There were 39 participants divided into two groups: a) without obesity (n=18) and with obesity (n=21). For pregnant women, clinical and laboratory information was collected from the prenatal card and the medical record. For newborns, anthropometric samples were obtained. In addition, samples of placental tissue and greater omentum obtained at the time of delivery were collected. For these samples, there was only one collecting obstetrician. The expression of RAS markers, Angiotensin Converting Enzyme (ACE), and ACE2 was measured by qRT-CPR. Also, the tissue samples were submitted for histological analysis and the inflammatory cell count was performed. The results showed higher ACE expression and lower ACE2 expression in the placenta and adipose tissue in the group of obese women. In the correlation analysis between the levels of ACE and ACE2 between the tissues, no statistically significant difference was found. As a result, correlation analyses of maternal-fetal clinical, laboratory, and anthropometric variables and levels of ACE and ACE2 expression in adipose tissue did not show a statistically significant association. As for the placenta, a negative correlation was observed between ACE2 expression levels and pre-pregnancy BMI ($r=-0.351$; $p=0.029$) and total cholesterol ($r=-0.364$; $p=0.024$). Finally, no statistically significant difference was observed in the percentage of inflammatory cells in the placenta and adipose tissue; moreover, no correlation was observed between the expression levels of ACE and ACE2 with the percentage of inflammatory cells in the placenta and adipose tissue. It is concluded that maternal obesity can modulate the expression of RAS components, interfering with parameters such as pre-gestational BMI and total cholesterol levels. Furthermore, ACE and ACE2 levels were not associated with tissue inflammatory cell counts.

Keywords: Obesity. Maternal obesity. Renin-Angiotensin System. Inflammation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	20
3	PRODUTOS TÉCNICO-CIENTÍFICOS	21
3.1	Produto 1: Níveis de expressão de ECA e ECA2 na placenta e no tecido adiposo branco e sua correlação com parâmetros clínicos, laboratoriais, antropométricos e histológicos de gestantes com e sem obesidade	21
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	22
	REFERÊNCIAS	Erro! Indicador não definido.
	ANEXO (S).....	Erro! Indicador não definido.

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma das mais prevalentes doenças crônicas não-transmissíveis no século XXI. Estima-se que em 2016, 1,9 bilhão dos adultos apresentaram sobrepeso ou obesidade (1), sendo que até 2030 cerca de 38% da população adulta mundial estará acima do peso e outros 20% serão obesos (2). No Brasil, a prevalência de obesidade aumentou de 11,8% em 2006 para 20,3% em 2019, representando um aumento de 3,8% ao ano (3).

O aumento da prevalência da obesidade impacta significativamente nos serviços de saúde, favorecendo o aumento de outras condições crônicas, incrementando gastos com serviços de saúde e afetando a cadeia de produtividade, devido aos anos de vida perdidos e gastos com seguridade social (4-7). Ademais, estima-se uma taxa global de morte relacionada ao IMC elevado próxima a 54 por 100.000 habitantes em 2015 (6).

Diversos fatores estão envolvidos na etiologia da obesidade, como ambientais (especialmente dietas ricas hipercalóricas e sedentarismo), genéticos, epigenéticos e culturais (8). A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, resultado de um desbalanço energético, sendo geralmente determinada quando o indivíduo apresenta Índice de Massa Corporal (IMC) maior ou igual a 30 Kg/m² (9). É responsável por desencadear outras doenças metabólicas, entre elas, diabetes *mellitus* tipo 2, hipertensão arterial primária e dislipidemias.

A fisiopatologia da obesidade é complexa e envolve diversos órgãos e tecidos, sendo o adiposo branco (TAB), o mais marcadamente afetado. O TAB é responsável pelo armazenamento de triacilgliceróis (reserva energética), isolamento térmico, proteção contra choque mecânicos e, especialmente, pela produção, liberação e ação (local e sistêmica) de adipocinas que exercem diversos efeitos moleculares (8, 28-30). Mais de 600 adipocinas são secretadas pelo TAB, influenciando a homeostase lipídica e glicêmica, modulando o apetite, a microbiota intestinal, a resposta imunológica e estabelecendo forte interação com outros órgãos e tecidos corporais (10-12). Por exemplo, no contexto da obesidade, a disfunção do TAB predispõe outras comorbidades, como o diabetes, o aumento da resistência à insulina, a doença hepática gordurosa não-alcoólica, dislipidemias e doenças cérebro-cardiovasculares, como acidente vascular encefálico e infarto agudo do miocárdio (13-15).

As adipocinas estão envolvidas em várias cascatas de sinalização metabólica e fisiológica e regulam a sinalização de insulina, captação de glicose, oxidação de ácidos graxos e outros processos metabólicos (8). As citocinas regulam a inflamação e a resolução da inflamação juntamente com a angiogênese adaptativa e reparativa. O ganho de peso e a obesidade causam uma mudança fenotípica de TAB, que é caracterizada pelo aparecimento de adipócitos disfuncionais inflamados, juntamente com a infiltração de células imunes na fração vascular estromal (9, 10). Os adipócitos inflamados secretam, local e sistemicamente, citocinas pró-inflamatórias, que por sua vez interrompem a função normal do próprio tecido adiposo, bem como dos órgãos remotos (11). Desse ponto de vista, o tecido adiposo pode ser considerado um órgão imune e secretor, e a obesidade uma doença imune inflamatória.

Os adipócitos hipertróficos e as células imunológicas residentes nos tecidos experimentam alterações fenotípicas que interrompem a secreção de citocinas anti-inflamatórias e protetoras para iniciar a secreção de adipocinas e citocinas inflamatórias que atuam tanto local quanto sistemicamente para induzir resistência periférica à insulina. A reação inflamatória é sustentada por quimioatraentes derivados de adipócitos, como o receptor de quimiocina C-C tipo 2 (CCR2), proteína quimioatraente de monócitos (MCP) e semaforina 3A (SEMA3A) (16) (Figura 1).

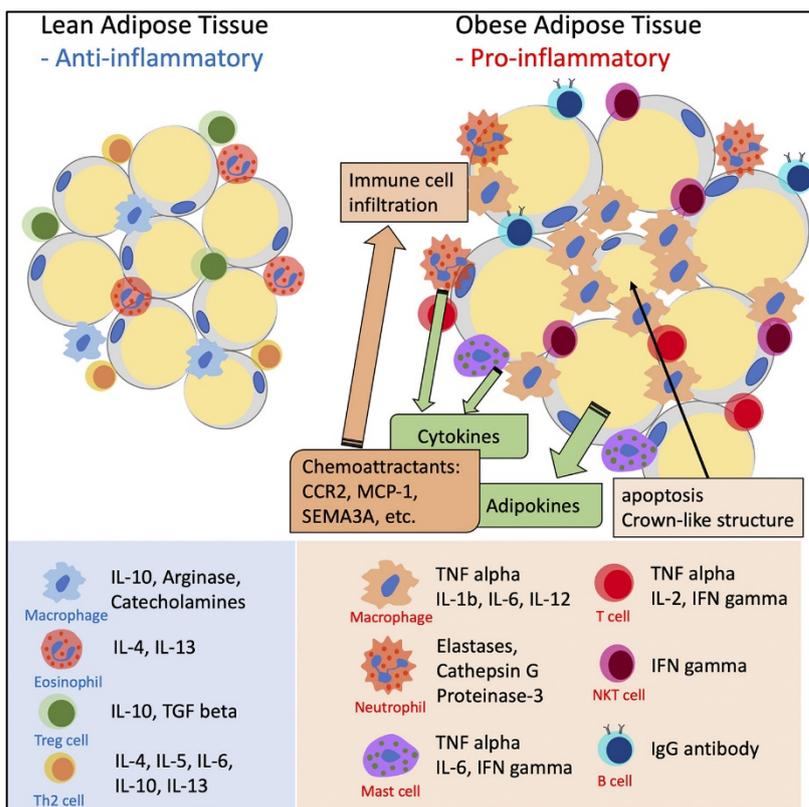


Figura 1. Comparação das características do tecido adiposo no indivíduo magro e com obesidade. Imagem retirada de Kawai, Autieri e Scalia (16).

A prevalência da obesidade aumentou substancialmente entre as mulheres em idade reprodutiva nas últimas duas décadas (17). Estimativas sugerem que em 2025 mais de 21% das mulheres do mundo em idade reprodutiva serão obesas (1). Além disso, em outro estudo foi mostrado que cerca de 40 milhões de gestantes estavam com sobrepeso ou obesidade no mundo em 2014, com significativo crescimento em países em desenvolvimento (18). A obesidade materna está associada ao maior risco de desenvolvimento de complicações maternas na gravidez (como doença hipertensiva específica da gravidez, diabetes gestacional e parto cesariana), de resultados perinatais adversos (prematuridade, morte fetal/neonatal, macrossomia) e de alterações metabólicas e corporais na prole na fase infantil e adulta, incluindo a própria obesidade (19-24) (Figura 2). Além das implicações imediatas relacionadas ao desenvolvimento de complicações na gravidez, evidências crescentes mostram que a obesidade materna é um dos principais determinantes da saúde da prole durante a infância e vida adulta, influenciando características metabólicas e cognitivas (24-28).

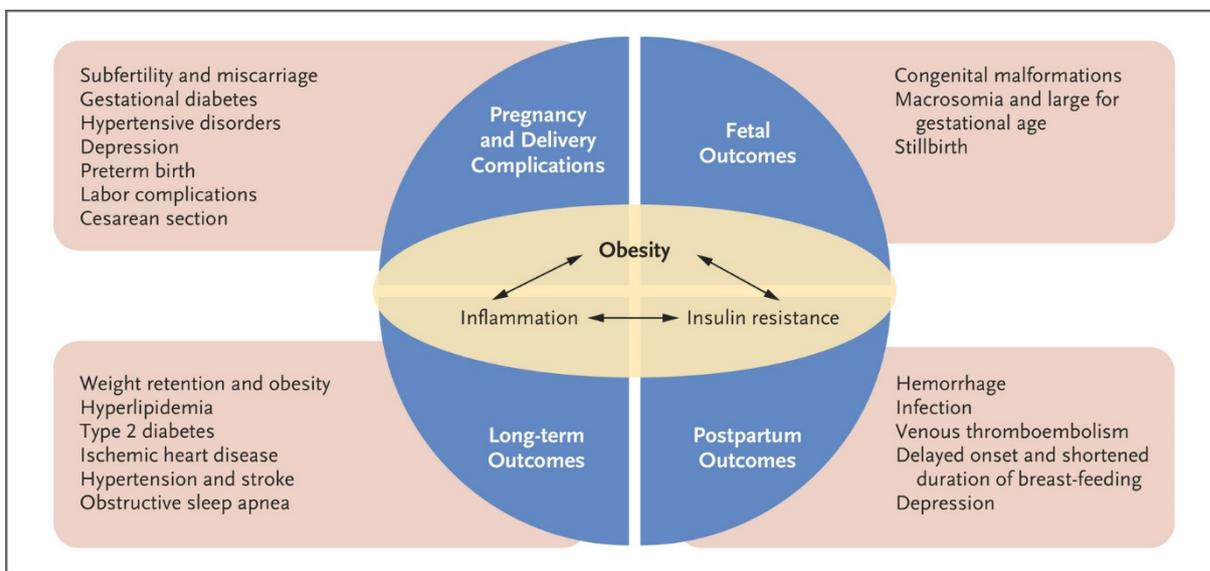


Figura 2. Gravidez, parto, pós-parto e desfechos maternos de longo prazo associados à obesidade. Retirada de Creanga et al. (29)

O metabolismo materno se adapta à gravidez normal para permitir a alocação de nutrientes para o crescimento placentário e fetal. Esta adaptação metabólica cuidadosamente regulada é perturbada quando a mãe é obesa, resultando em um 'ambiente metabólico' menos ideal que provavelmente está ligado a mudanças na função placentária, crescimento e desenvolvimento fetal. O fenótipo metabólico característico de mulheres que iniciam a gravidez

com obesidade está relacionado à homeostase glicêmica e lipídica, hormônios metabólicos e mediadores inflamatórios (30). Ademais, a obesidade materna está associada a alterações características na liberação de adipocinas, que têm efeitos sistêmicos no metabolismo e na homeostase energética (31).

Muitos metabólitos maternos, hormônios, fatores de crescimento e citocinas que são alterados na obesidade materna têm efeitos bem estabelecidos na função placentária e podem mediar os efeitos da obesidade materna, entre eles, os componentes do Sistema Renina-Angiotensina (SRA). O SRA é um dos sistemas reguladores hormonais mais complexos, envolvendo vários órgãos que interagem para regular múltiplas funções do corpo, como o balanço hidroeletrólítico, a pressão arterial e a homeostase glicêmica e lipídica (32).

Constitui-se de uma cascata peptídica, iniciada pelo angiotensinogênio (AGT), único peptídeo do RAS, que é clivado pela renina (protease sintetizada no rim), em angiotensina I (Ang I), que por sua vez é processada pela enzima conversora de angiotensina (ECA) para produzir o octapeptídeo ativo, angiotensina II (Ang II). As ações da Ang II são mediadas principalmente pela ligação de seus dois receptores, tipo 1 (AT1R) e tipo 2 (AT2R), que pertencem à superfamília de receptores acoplados à proteína G. As importantes ações cardiovasculares da Ang II, incluindo a regulação da pressão arterial com vasoconstrição, liberação de aldosterona e equilíbrio hidroeletrólítico. Nos últimos anos, sabe-se de importantes ações da Ang II/AT1R no metabolismo, inflamação e proliferação celular. Por outro lado, evidências crescentes apoiam o conceito de um braço contrarregulador com efeitos opostos a ECA/AngII/AT1R. A enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) e a neprilisina (NEP) fazem parte desse sistema de contrarregulação. ACE2 e NEP podem clivar Ang II para produzir angiotensina-(1-7) (Ang-1-7), e ACE2 cliva Ang I para gerar angiotensina-(1-9) (Ang-1-9), que também é convertida para Ang-(1-7). Ang-(1-7) liga-se ao receptor MasR, induzindo efeitos vasodilatadores, anti-hipertensivos, antiinflamatórios e anti-proliferativos (32-34) (Figura 3).

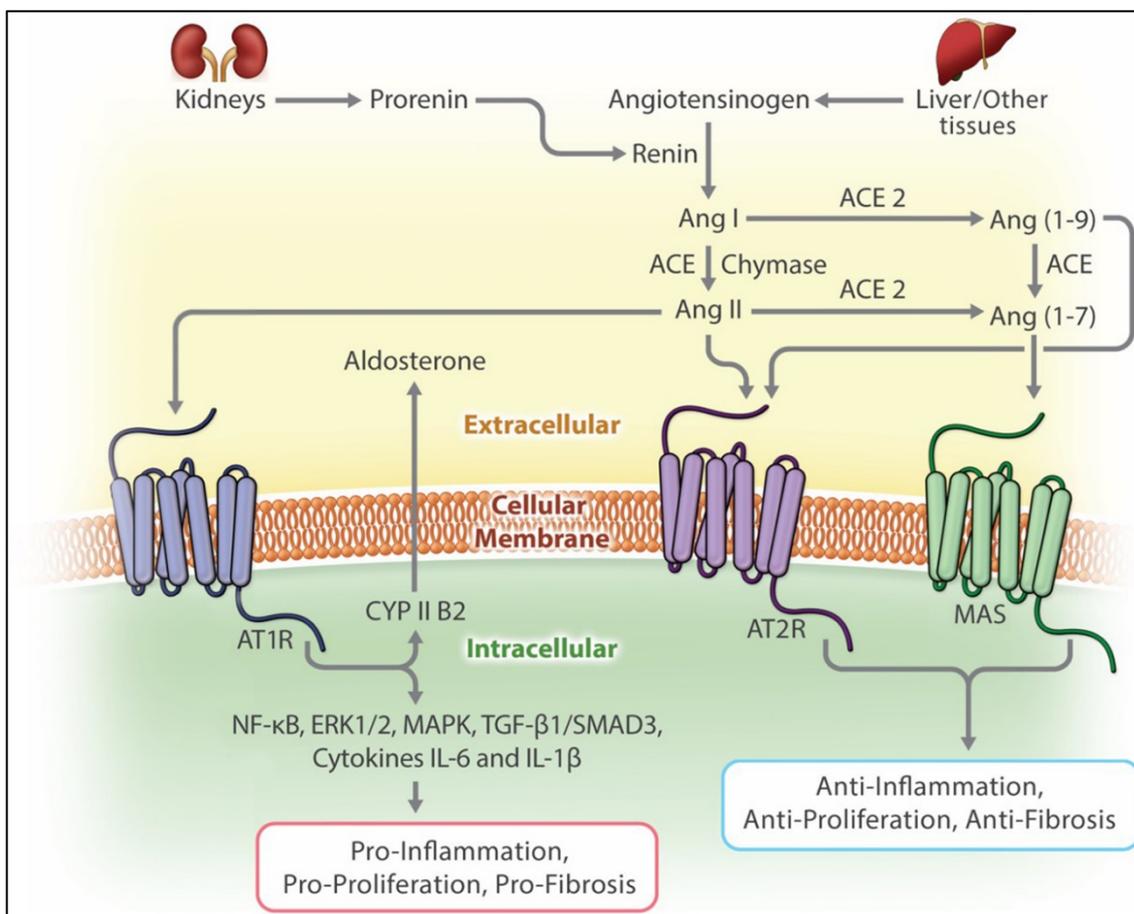


Figura 3. Visão esquemática do Sistema Renina-Angiotensina. Retirado de Monteonfrio et al. (35).

A obesidade é uma importante condição de modulação sistêmica e tecidual do SRA. Diversos estudos com humanos e roedores apontam que componentes do SRA são modulados na obesidade (36-38). Observa-se um aumento da atividade do eixo ECA/AngII/AT1R na obesidade, modulando vias pró-inflamatórias, pró-trombóticas e proliferativas. Por exemplo, a Ang II inicia a ativação regula a resposta inflamatória, através do aumento do estresse oxidativo e produção de citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento mediados pela ativação do fator de transcrição NF- κ B (39-41). Dessa forma, a Ang II inicia uma cadeia de processos inflamatórios que induzem várias comorbidades observadas na obesidade, através de diferentes mecanismos moleculares. Em contrapartida, vários estudos mostraram que o eixo ACE2/Ang(1-7)/MasR reduz a liberação de citocinas e inibe as vias de sinalização da fibrose tecidual em modelos experimentais de doenças humanas, incluindo aterosclerose, isquemia cerebral, obesidade, doença renal crônica (42-44).

Diante desse contexto, o presente estudo levanta as seguintes questões norteadoras: a) há diferença nos níveis de expressão de ECA e ECA2 na placenta e tecido adiposo de gestantes

com e sem obesidade? b) esses níveis de expressão estão correlacionados com variáveis antropométricas, clínicas e laboratoriais? c) ainda, há correlação com a contagem tecidual de células inflamatórias?

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

- Avaliar os níveis de expressão de ECA e ECA2 na placenta e tecido adiposo de gestantes com e sem obesidade.

2.2 Objetivos específicos:

- Comparar parâmetros clínicos, laboratoriais e antropométricos em gestantes com e sem obesidade.
- Correlacionar os níveis de expressão de ECA e ECA2 na placenta e tecido adiposo.
- Correlacionar os níveis de expressão de ECA e ECA2 com variáveis clínicas, laboratoriais (das gestantes) e antropométricas (das gestantes e recém-nascidos).
- Mensurar o percentual de células inflamatórias na placenta e tecido adiposo.
- Correlacionar os níveis de expressão de ECA e ECA2 com o percentual de células inflamatórias.

3 PRODUTOS TÉCNICO-CIENTÍFICOS

Produto 1: Níveis de expressão de ECA e ECA2 na placenta e no tecido adiposo branco e sua correlação com parâmetros clínicos, laboratoriais, antropométricos e histológicos de gestantes com e sem obesidade, submetido ao periódico Archives of Endocrinology and Metabolism (Qualis Capes na subárea interdisciplinar: B1)

3.1 Artigo 1

Níveis de expressão de ECA e ECA2 na placenta e no tecido adiposo branco e sua correlação com parâmetros clínicos, laboratoriais, antropométricos e histológicos de gestantes com e sem obesidade

Orcione Ferreira Guimarães Júnior¹, Gabriel Ledo Pereira de Oliveira², João Marcus Oliveira Andrade^{1,3*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS). Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), Minas Gerais, Brasil.

² Faculdade Santo Agostinho (FASA), Vitória da Conquista, Bahia, Brasil

³ Departamento de Fisiopatologia. Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), Minas Gerais, Brasil.

***Autor para correspondência:**

João Marcus Oliveira Andrade

Endereço: Avenida Cula Mangabeira, 562, Santo Expedito. CEP: 39401-696

Montes Claros, Minas Gerais, Brazil

E-mail: joao.andrade@unimontes.br

Telefone: +55 38 9.9862-8909

RESUMO

A obesidade materna compreende um importante fator associado a desfechos materno-fetais desfavoráveis. Sabe-se que a modulação do Sistema Renina-Angiotensina (SRA) na obesidade é um dos fatores de relacionados à complicações associadas, devido sua interferência na produção de adipocinas e mediadores inflamatórios. Poucos estudos exploram a relação entre obesidade materna, SRA e inflamação. Assim, o presente estudo avaliou a expressão de ECA e ECA2 na placenta e adiposo branco de mulheres com ou sem obesidade e correlacionou seus níveis com parâmetros antropométricos, clínicos, laboratoriais e com contagem tecidual de células inflamatórias. Consistiu em um estudo transversal realizado com 39 mulheres divididas em dois grupos: a) magras (=18) e obesas (n=21). As variáveis antropométricas, clínicas e laboratoriais foram coletados por meio de entrevistas com as participantes, do cartão de pré-natal e do prontuário médico. Amostras de placenta e tecido adiposo foram coletadas no momento da cesariana e utilizadas para mensuração da expressão de mRNA para ECA e ECA2 por meio de qRT-PCR, e para contagem das células inflamatórias através de microscopia convencional. Foram utilizados test-t Student e coeficiente de correlação de Spearman para as análises estatísticas. Foi observado aumento da expressão de ECA e diminuição de ECA2 na placenta e tecido adiposo de mulheres com obesidade. Os níveis de ECA2 apresentaram correlação negativa com IMC pré-gestacional e colesterol total. Não foram observadas diferenças na contagem de células inflamatórias, tampouco correlação com os níveis de ECA e ECA2. Conclui-se que a obesidade materna pode modular a expressão de componentes do SRA, mas sem afetar a contagem de células inflamatórias na placenta e no tecido adiposo.

Palavras-chave: obesidade materna; sistema renina-angiotensina; inflamação.

INTRODUÇÃO

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, resultado de um desbalanço energético, sendo geralmente determinada quando o indivíduo apresenta Índice de Massa Corporal (IMC) $\geq 30 \text{ Kg/m}^2$ (1). É responsável por desencadear outras doenças, como diabetes, acidose vascular encefálica, infarto agudo do miocárdio e doença hepática gordurosa não-alcóolica. Estima-se que em 2030 cerca de 38% da população adulta mundial estará acima do peso e outros 20% serão obesos (2).

A obesidade é uma doença multifatorial, envolvendo fatores ambientais (como dietas hipercalóricas e sedentarismo), genéticos, epigenéticos e culturais (3).

A prevalência da obesidade aumentou substancialmente entre as mulheres em idade reprodutiva nas últimas duas décadas (4). Estimativas sugerem que em 2025 mais de 21% das mulheres do mundo em idade reprodutiva serão obesas (5). A obesidade materna está associada ao maior risco de desenvolvimento de complicações maternas na gravidez (como doença hipertensiva específica da gravidez, diabetes gestacional e parto cesariana), de resultados perinatais adversos (prematuridade, morte fetal/neonatal, macrossomia) e de alterações metabólicas e corporais na prole na fase infantil e adulta, incluindo a própria obesidade (6-11).

Sabe-se que a obesidade pode proporcionar importantes alterações em vias celulares, incluindo o Sistema Renina-Angiotensina (SRA). O SRA é um dos sistemas reguladores hormonais mais complexos, envolvendo vários órgãos que interagem para regular múltiplas funções do corpo, como o balanço hidroeletrólítico, a pressão arterial e a homeostase glicêmica e lipídica (12).

Constitui-se de uma cascata peptídica, iniciada pelo angiotensinogênio (AGT), único peptídeo do RAS, que é clivado pela renina (protease sintetizada no rim), em angiotensina I (Ang I), que por sua vez é processada pela enzima conversora de angiotensina (ECA) para produzir o octapeptídeo ativo, angiotensina II (Ang II). As ações da Ang II são mediadas principalmente pela ligação de seus dois receptores, tipo 1 (AT1R) e tipo 2 (AT2R), que pertencem à superfamília de receptores acoplados à proteína G. As importantes ações cardiovasculares da Ang II, incluindo a regulação da pressão arterial com vasoconstrição, liberação de aldosterona e equilíbrio hidroeletrólítico. Nos últimos anos, sabe-se de importantes ações da Ang II/AT1R no metabolismo, inflamação e proliferação celular. Por outro lado, evidências crescentes apoiam o conceito de um braço contrarregulador com efeitos opostos a ECA/AngII/AT1R. A enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) e a neprilisina (NEP) fazem

parte desse sistema de contrarregulação. ACE2 e NEP podem clivar Ang II para produzir angiotensina-(1-7) (Ang-1-7), e ACE2 cliva Ang I para gerar angiotensina-(1-9) (Ang-1-9), que também é convertida para Ang-(1-7). Ang-(1-7) liga-se ao receptor MasR, induzindo efeitos vasodilatadores, anti-hipertensivos, antiinflamatórios e anti-proliferativos (12-14).

Além da presença do RAS no sangue circulante, as ações do RAS podem ocorrer por meio da geração e atividade dos componentes do RAS em diversos tecidos, como a placenta e o tecido adiposo branco (TAB) e regulando diversos processos associados à homeostase glicêmica e lipídica, inflamação, adipogênese e angiogênese (15, 16).

Diante do exposto, é fundamental a compreensão mais detalhada do potencial efeito do SRA no contexto da obesidade materna. Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a expressão de ECA e ECA2 nos tecidos placentário e adiposo branco de mulheres com ou sem obesidade e correlacionar seus níveis com parâmetros antropométricos, clínicos e laboratoriais materno/fetais.

MATERIAIS E MÉTODO

Tipo de estudo e sujeitos da pesquisa

Trata-se de um estudo transversal analítico realizado com 39 gestantes divididas em dois grupos: a) sem obesidade (n=18) e com obesidade (n=21), atendidas em um hospital público na cidade de Vitória da Conquista, Bahia, Brasil.

As participantes foram selecionados a partir de amostragem de conveniência, não intencional, de acordo com a demanda de atendimentos/internações do hospital, entre os meses de janeiro a março de 2022.

Foram adotados como critérios de inclusão: gestantes com idade entre 18 anos e 35 anos, admitidas em regime de internação hospitalar para realização de cesariana eletiva, de gestação a termo (com idade gestacional entre 37 e 39 semanas); ser gestação de feto único, sem alterações morfológicas identificáveis por ultrassonografia obstétrica; ter iniciado o pré-natal até a 8ª semana de gestação; não praticar exercício físico (nos últimos seis meses anteriores à gravidez e durante a gestação); não consumir bebidas alcoólicas e tabaco (nos últimos seis meses anteriores à gravidez e durante a gestação); não usar medicamentos, exceto os suplementos vitamínicos indicados na gestação (ácido fólico e ferro elementar); não ser portadora ou ter antecedentes pessoais de doença crônica e/ou infecciosa pré-gestacionais e/ou gestacionais, exceto a obesidade; possuir cartão de pré-natal descrevendo informações acerca

do peso pré-gestacional (aferido na 1ª consulta de pré-natal), estatura e ganho de peso gestacional total calculado; ter Índice de Massa Corporal entre 18,5 e 24,9 Kg/m² para participantes sem obesidade e $\geq 30,0$ Kg/m² para participantes com obesidade; aceitar participar da pesquisa, mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Procedimento de coleta de dados

A coleta de dados envolveu equipe formada por dois pesquisadores com formação em Medicina, vinculados formalmente ao serviço onde o estudo foi realizado. As informações antropométricas, clínicas e laboratoriais foram coletados por meio de entrevistas com as participantes, do cartão de pré-natal e do prontuário médico.

A coleta do tecido placentário e adiposo (omento maior) foi conduzida por um único médico obstetra no momento do parto. Para cada tecido foram obtidas duas amostras, com peso de cerca de 1 a 2 gramas. Logo após a retirada, uma das amostras foi lavada com solução de cloreto de sódio 0,9% e imediatamente acondicionada em solução de preservação da integridade do RNA (RNAlater® Stabilization Solution, ThermoFisher Scientific®, Estados Unidos) e em seguida armazenada sob temperatura -20°C para análises de expressão de mRNA. A segunda amostra foi armazenada em solução de formaldeído a 10% tamponado, mantida em temperatura ambiente e destinada para realização de análises e histológicas.

Extração de RNA, transcrição reversa e qRT-PCR

O RNA total foi obtido a partir de 200 mg de tecido placentário e 300 mg de tecido adiposo, segundo o protocolo descrito pelo TRIzol™ Reagent (ThermoFisher Scientific®, Estados Unidos). As concentrações de RNA foram determinadas em espectrofotômetro (Nano Drop® ND-1.000, Estados Unidos) a 260 e 280 nm; e as amostras armazenadas a -80°C até o momento das análises seguintes. Para síntese do cDNA, inicialmente as amostras de RNA foram tratadas com DNase (Promega®, Estados Unidos), e em seguida realizada a retrotranscrição, utilizando o kit SuperScript™ III Reverse Transcriptase (ThermoFisher Scientific®, Estados Unidos) seguindo as instruções do fabricante. Foram utilizados 2.000 ng de RNA para a síntese de cDNA, que foi armazenado a -20°C para análises posteriores. Em seguida, procedeu-se com a mensuração do nível de expressão de mRNA de ECA e ECA2, tendo o GAPDH como gene de padrão normalizador. Para as reações de qRT-PCR, foram usados SYBR® Green Real-Time PCR SuperMix (ThermoFisher Scientific®, Estados Unidos), sendo realizadas na plataforma Applied Biosystems® QuantStudio™ 6 Flex Real-Time PCR

System (ThermoFisher Scientific®, Estados Unidos). A relação da expressão gênica entre a amostra (gene alvo) e gene normalizador foi calculado utilizando a fórmula $2^{-\Delta\Delta CT}$ (17).

Análise histológica

As amostras de placenta e tecido adiposo branco foram fixadas em solução de formaldeído a 10%. Em seguida, foram desidratadas em solução de álcool etílico, banhadas em xilol e incluídas em blocos de parafina. Cortes teciduais de 5 μm de espessura foram obtidos utilizando micrótomo e corados com hematoxilina & eosina (H&E). A visualização dos cortes e a captação foram feitas em microscópio da marca e200 eclipse (Nikon, Japão), em objetiva de 40x de aumento. A contagem de células inflamatórias foi realizada por um médico patologista, por meio de varredura de 10 campos por lâmina.

Variáveis sociodemográficas, clínicas, laboratoriais e antropométricas

As variáveis maternas foram: idade (em anos), escolaridade (em anos), número de consultas de pré-natal (até a data da internação hospitalar para o parto), pressão arterial sistólica e diastólica gestacional (mmHg; mensuradas na 1ª consulta de pré-natal), duração da gravidez (em semanas; calculada até a data do parto e estimada pela ultrassonografia de 1º trimestre), níveis de colesterol total (mg/dL), colesterol de alta densidade (HDL) (mg/dL), triglicerídeos (mg/dL) e glicose de jejum (mg/dL). O peso corporal pré-gestacional e altura foram obtidos pelo cartão de pré-natal (mensuradas na 1ª consulta de pré-natal); o peso corporal antes do parto foi obtido no dia do parto, em jejum e com a bexiga vazia. Com base nos dados antropométricos obtidos, o Índice de Massa Corporal (IMC) pré-gestacional, usando a fórmula peso corporal (Kg) / altura corporal (m^2). O ganho de peso durante a gestação foram calculados a partir da diferença entre o peso do dia do parto e aquele obtido na 1ª consulta de pré-natal.

As variáveis fetais avaliadas foram: peso, comprimento, foram obtidos de prontuários clínicos. O peso ao nascer dos recém-nascidos foi na primeira hora de vida, mensurado usando balança pediátrica digital. O comprimento de nascimento também foi avaliada na primeira hora de vida, usando régua de madeira graduada em cm. O Índice Ponderal (IP) foi calculado com base no peso e comprimento ao nascer, pela fórmula: $\text{IP (g/cm}^3\text{)} = (\text{peso ao nascer (g)} \times 100) / \text{comprimento ao nascer (cm)}^3$.

Análises estatísticas de dados

Os dados foram analisados usando o programa estatístico SPSS® IBM versão 24.0. Inicialmente, os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Os valores da expressão gênica das adipocinas foram expressos em média \pm desvio padrão. Foi utilizado o teste t-student para comparar as médias entre os dois grupos de estudo. O coeficiente de correlação de Spearman foi utilizado para realizar a análise de correlação linear entre dois grupos com variáveis contínuas. Adotou-se significância estatística com $p < 0,05$ e dos dados foram apresentados em tabelas e gráficos. Os gráficos foram construídas por meio do programa estatístico GraphPad Prism® 7.0.

Aspectos éticos

Todos os participantes foram orientados sobre a pesquisa e apresentaram sua anuência, através da assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Unimontes, por meio do parecer consubstanciado nº 3.553.143.

RESULTADOS

Os parâmetros clínicos, antropométricos e laboratoriais materno-fetais foram trazidos na Tabela 1. Observou diferença estatisticamente significativa entre as médias para IMC pré-gestacional.

Foi observado maiores níveis de expressão de ECA na placenta e no tecido adiposo no grupo com obesidade (Figura 1A-B). Por outro lado, a expressão de ECA2 foi menor no grupo Obeso em ambos os tecidos (Figura 1C-D). Não existiu correlação estatisticamente significativa para os níveis de expressão de ECA e ECA2 na placenta e no tecido adiposo (Figura 2A-B).

As análises de correlação entre as variáveis clínicas, laboratoriais e antropométricas materno-fetais e os níveis de expressão de ECA e ECA2 no tecido adiposo não mostraram associação estatisticamente significativa (Tabela 2). Já para a placenta, foram observadas correlação negativa entre os níveis de expressão de ECA2 e IMC pré-gestacional ($r = -0.351$; $p = 0.029$) e colesterol total ($r = -0.364$; $p = 0.024$) (Tabela 3).

Posteriormente, foi avaliado o percentual de células inflamatórias na placenta e tecido adiposo, não sendo observadas diferenças estatisticamente significativas (Figura 3A-B).

A Tabela 4 mostra a correlação entre os níveis de expressão de ECA e ECA2 com o percentual de células inflamatórias na placenta e tecido adiposo. Não foram observadas correlações estatisticamente significativas.

DISCUSSÃO

No presente estudo observou alteração nos níveis de expressão tecidual (placenta e tecido adiposo) de ECA e ECA2 em mulheres com obesidade. Ademais, foi observado correlação negativa entre os níveis expressão de ECA2 na placenta com IMC pré-gestacional e colesterol total. Não foram observados alterações na contagem de células inflamatórias na placenta e tecido adiposo tampouco correlação com os níveis de expressão de ECA e ECA2.

A modulação do SRA é comum na obesidade, e incluem mecanismos, como estimulação simpática, síntese de adipocinas no tecido adiposo, regulação de vias inflamatórias e controle da homeostase glicêmico e lipídica (18-21). Sabe-se ainda, da existência de SRA tecidual, exercendo efeitos locais diversos em diferentes órgãos e tecidos, como rim, coração, cérebro, tecido adiposo e placenta (22).

ECA e seu homólogo, a ECA2 são duas enzimas-chave envolvidas na síntese de componentes bioativos do SRA. Os principais peptídeos ativos do SRA incluem Ang II, Ang III, Ang IV e Ang-(1-7), entre os quais Ang II e Ang-(1-7) são muito mais importantes. O eixo formado pela ECA2 representa uma via endógena contrarreguladora dentro do SRA, e suas ações são opostas às do eixo ECA (13, 18). Convencionalmente, o SRA tem sido considerado importante no sistema cardiovascular, metabolismo, crescimento celular e homeostase.

Em nosso estudo, foi observado maiores níveis de ECA e menores de ECA2 no grupo de mulheres com obesidade. Diversos estudos mostram os efeitos da obesidade sobre a expressão de componentes do SRA. Estudo de Santos et al. evidenciou que o tratamento oral com Ang-(1-7) foi capaz de reduzir o peso e a adiposidade corporal, melhorar a homeostase glicêmica e reduzir a expressão de marcadores inflamatórios no fígado de ratos com obesidade induzida por dieta (23). Em outro estudo, a Ang-(1-7) promoveu melhora metabólica, aumentando a expressão de GLUT4 e da via AMPK/FOXO1/PPAR no tecido adiposo branco (24). Além disso, os compostos que inibem a atividade do RAS também atuam na obesidade, levando à redução do peso corporal. Por exemplo, a inibição da ECA ou bloqueio de AT1R diminuem o peso corporal em roedores (25-29). Por fim, Cerri et al. mostraram, em modelo murinho, que a obesidade materna foi capaz de modular componentes do SRA no útero e placenta, levando a maior adiposidade fetal (30).

A correlação negativa entre a expressão placentária de ECA2 com os níveis de colesterol total observada em nosso estudo, é sustentada por outros estudos que mostram que a modulação do SRA pode influenciar a homeostase lipídica. Estudo de Yang et al., por exemplo, mostra a

Ang II induz acúmulo de colesterol, levando a lesão em podócitos (31). Estudos experimentais demonstraram que a hiperlipidemia aumenta a atividade do SRA e todos os componentes da ativação aumentada do SRA foram identificados em lesões ateroscleróticas (32). Estes incluem, em particular, expressão aumentada de ACE e AT1R. Estudos em tecidos ateroscleróticos humanos confirmaram a regulação positiva da ECA e AT1R, particularmente nas regiões propensas à ruptura da placa aterosclerótica (33, 34). Em contrapartida, Feltenberg et al. mostraram que a Ang-(1-7) capaz de diminuir os níveis plasmáticos de colesterol total e triglicérides e modular a expressão de ACC, PPAR γ e SREBP1c no fígado de camundongos com obesidade (35). No contexto da obesidade materna, estudo de revisão sistemática mostrou que gestantes com obesidade são mais propensas à intercorrências dislipidêmicas, o que, sugere a ocorrência de parto prematura e uma elevada transferência de lipídios para o feto; assim fetos prematuras de mães dislipidêmicas apresentam maior risco de desenvolver gordura epicárdica tanto na fase precoce (primeiro ano de vida) quanto na tardia (vida adulta) na prole (36).

A despeito do observado em nosso estudo, a ativação de componentes do SRA pode influenciar vias de inflamação. Ademais, a própria obesidade altera do padrão fenotípico do tecido adiposo branco devido o desbalanço energético, culminado no aumento da produção de liberação de citocinas pró-inflamatórias, como TNF α , IFN γ , IL-1 β e IL-6, e aumento da inflamação (37). A inflamação é parte fundamental no processo fisiopatológicos de diversas condições associadas à obesidade, como resistência à insulina, esteatohepatite e lesão endotelial (38).

Diversos estudos têm mostrado que o SRA desempenha um papel relevante na patogênese de doenças inflamatórias (39, 40). Nesse contexto, a maioria das ações pró-inflamatórias do SRA parece ser decorrente dos efeitos do eixo ECA/Ang II/AT1R. De fato, a Ang II ativa várias funções celulares e vias de sinalização molecular relacionadas à lesão tecidual, inflamação e fibrose, incluindo mobilização de cálcio, geração de radicais livres, ativação de proteínas quinases e fatores de transcrição nuclear, recrutamento de células inflamatórias, adesão de monócitos e neutrófilos ao endotélio e mesangiais, regulação positiva de moléculas de adesão e estimulação da expressão, síntese e liberação de citocinas e quimiocinas (41).

Conclui-se que a obesidade materna pode modular a expressão de componentes do SRA, interferindo em parâmetros, como IMC pré-gestacional e níveis de colesterol total. Ademais, níveis de ECA e ECA2 não estiveram associados à contagem tecidual de células inflamatórias.

Apesar das importantes limitações metodológicas do estudo, especialmente devido o pequeno número de participantes no estudo e a não mensuração proteica de ECA e ECA2, reconhecemos que o estudo traz importantes contribuições para a compreensão do papel do SRA na obesidade materna.

REFERÊNCIAS

1. González-Muniesa P, Martínez-González M-A, Hu FB, Després J-P, Matsuzawa Y, Loos RJF, et al. Obesity. *Nature Reviews Disease Primers*. 2017;3(1):17034.
2. Kelly T, Yang W, Chen CS, Reynolds K, He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *International journal of obesity*. 2008;32(9):1431-7.
3. Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *The New England journal of medicine*. 2017;376(3):254-66.
4. Obesity in Pregnancy: ACOG Practice Bulletin, Number 230. *Obstetrics and gynecology*. 2021;137(6):e128-e44.
5. Collaboration NCDRF. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 2017;390(10113):2627-42.
6. Aune D, Saugstad OD, Henriksen T, Tonstad S. Maternal body mass index and the risk of fetal death, stillbirth, and infant death: a systematic review and meta-analysis. *Jama*. 2014;311(15):1536-46.
7. Gaillard R, Durmus B, Hofman A, Mackenbach JP, Steegers EA, Jaddoe VW. Risk factors and outcomes of maternal obesity and excessive weight gain during pregnancy. *Obesity*. 2013;21(5):1046-55.
8. Ruager-Martin R, Hyde MJ, Modi N. Maternal obesity and infant outcomes. *Early human development*. 2010;86(11):715-22.
9. Cnattingius S, Villamor E, Johansson S, Edstedt Bonamy AK, Persson M, Wikstrom AK, et al. Maternal obesity and risk of preterm delivery. *Jama*. 2013;309(22):2362-70.
10. Gaudet L, Ferraro ZM, Wen SW, Walker M. Maternal obesity and occurrence of fetal macrosomia: a systematic review and meta-analysis. *BioMed research international*. 2014;2014:640291.
11. Godfrey KM, Reynolds RM, Prescott SL, Nyirenda M, Jaddoe VW, Eriksson JG, et al. Influence of maternal obesity on the long-term health of offspring. *The lancet Diabetes & endocrinology*. 2017;5(1):53-64.
12. Sevá Pessôa B, van der Lubbe N, Verdonk K, Roks AJM, Hoorn EJ, Danser AHJ. Key developments in renin–angiotensin–aldosterone system inhibition. *Nature Reviews Nephrology*. 2013;9(1):26-36.
13. Santos SH, Andrade JM. Angiotensin 1-7: a peptide for preventing and treating metabolic syndrome. *Peptides*. 2014;59:34-41.
14. Paz Ocaranza M, Riquelme JA, García L, Jalil JE, Chiong M, Santos RAS, et al. Counter-regulatory renin–angiotensin system in cardiovascular disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2020;17(2):116-29.
15. Cassis LA, Police SB, Yiannikouris F, Thatcher SE. Local adipose tissue renin-angiotensin system. *Current hypertension reports*. 2008;10(2):93-8.
16. Tamanna S, Morosin SK, Delforce SJ, van Helden DF, Lumbers ER, Pringle KG. Renin-angiotensin system (RAS) enzymes and placental trophoblast syncytialisation. *Molecular and cellular endocrinology*. 2022;547:111609.

17. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ Method. *Methods* (San Diego, Calif). 2001;25(4):402-8.
18. Schütten MT, Houben AJ, de Leeuw PW, Stehouwer CD. The Link Between Adipose Tissue Renin-Angiotensin-Aldosterone System Signaling and Obesity-Associated Hypertension. *Physiology* (Bethesda, Md). 2017;32(3):197-209.
19. Cabandugama PK, Gardner MJ, Sowers JR. The Renin Angiotensin Aldosterone System in Obesity and Hypertension: Roles in the Cardiorenal Metabolic Syndrome. *The Medical clinics of North America*. 2017;101(1):129-37.
20. Kalupahana NS, Moustaid-Moussa N. The renin-angiotensin system: a link between obesity, inflammation and insulin resistance. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2012;13(2):136-49.
21. de Kloet AD, Krause EG, Woods SC. The renin angiotensin system and the metabolic syndrome. *Physiology & behavior*. 2010;100(5):525-34.
22. Skov J, Persson F, Frøkiær J, Christiansen JS. Tissue Renin-Angiotensin systems: a unifying hypothesis of metabolic disease. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014;5:23.
23. Santos SHS, Andrade JMO, Fernandes LR, Sinisterra RDM, Sousa FB, Feltenberger JD, et al. Oral Angiotensin-(1-7) prevented obesity and hepatic inflammation by inhibition of resistin/TLR4/MAPK/NF- κ B in rats fed with high-fat diet. *Peptides*. 2013;46:47-52.
24. Oliveira Andrade JM, Paraíso AF, Garcia ZM, Ferreira AV, Sinisterra RD, Sousa FB, et al. Cross talk between angiotensin-(1-7)/Mas axis and sirtuins in adipose tissue and metabolism of high-fat feed mice. *Peptides*. 2014;55:158-65.
25. Santos EL, de Picoli Souza K, Guimarães PB, Reis FC, Silva SM, Costa-Neto CM, et al. Effect of angiotensin converting enzyme inhibitor enalapril on body weight and composition in young rats. *International immunopharmacology*. 2008;8(2):247-53.
26. Borém LMA, Freitas DF, Machado AS, Paraíso AF, Caldas BV, Neto JFR, et al. Angiotensin II type 1 receptor (AT1) blockade by Telmisartan attenuates hepatic steatosis in high-fat fed mice reducing Resistin, TRL4, and Myd88 expression. *Egyptian Liver Journal*. 2022;12(1):55.
27. Moraes DS, Lelis DF, Andrade JMO, Meyer L, Guimarães ALS, De Paula AMB, et al. Enalapril improves obesity associated liver injury ameliorating systemic metabolic markers by modulating Angiotensin Converting Enzymes ACE/ACE2 expression in high-fat feed mice. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 2021;152:106501.
28. de Kloet AD, Krause EG, Kim DH, Sakai RR, Seeley RJ, Woods SC. The effect of angiotensin-converting enzyme inhibition using captopril on energy balance and glucose homeostasis. *Endocrinology*. 2009;150(9):4114-23.
29. Sugimoto K, Qi NR, Kazdová L, Pravenec M, Ogihara T, Kurtz TW. Telmisartan but not valsartan increases caloric expenditure and protects against weight gain and hepatic steatosis. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. 2006;47(5):1003-9.
30. Cerri GC, Motta-Santos D, Andrade JMO, Rezende LFd, Santos RASd, Santos SHS. Maternal obesity modulates both the renin-angiotensin system in mice dams and fetal adiposity. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2020;84:108413.
31. Yang Y, Yang Q, Yang J, Ma Y, Ding G. Angiotensin II induces cholesterol accumulation and injury in podocytes. *Sci Rep*. 2017;7(1):10672.
32. Singh BM, Mehta JL. Interactions between the renin-angiotensin system and dyslipidemia: relevance in the therapy of hypertension and coronary heart disease. *Archives of internal medicine*. 2003;163(11):1296-304.
33. Schieffer B, Schieffer E, Hilfiker-Kleiner D, Hilfiker A, Kovanen PT, Kaartinen M, et al. Expression of Angiotensin II and Interleukin 6 in Human Coronary Atherosclerotic Plaques. *Circulation*. 2000;101(12):1372-8.

34. Gross CM, Gerbault S, Quensel C, Krämer J, Mittelmeier H-O, Luft FC, et al. Angiotensin II type 1 receptor expression in human coronary arteries with variable degrees of atherosclerosis. *Basic Research in Cardiology*. 2002;97(4):327-33.
35. Feltenberger JD, Andrade JM, Paráiso A, Barros LO, Filho AB, Sinisterra RD, et al. Oral formulation of angiotensin-(1-7) improves lipid metabolism and prevents high-fat diet-induced hepatic steatosis and inflammation in mice. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. 2013;62(2):324-30.
36. Nascimento IBd, Dienstmann G, Souza MLRd, Silva TRe, Fleig R, Silva JC. Dyslipidemia and maternal obesity: Prematurity and neonatal prognosis. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2018;64.
37. Kawai T, Autieri MV, Scalia R. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. *American journal of physiology Cell physiology*. 2021;320(3):C375-c91.
38. Reilly SM, Saltiel AR. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. *Nature Reviews Endocrinology*. 2017;13(11):633-43.
39. Cantero-Navarro E, Fernández-Fernández B, Ramos AM, Rayego-Mateos S, Rodrigues-Diez RR, Sánchez-Niño MD, et al. Renin-angiotensin system and inflammation update. *Molecular and cellular endocrinology*. 2021;529:111254.
40. Bekassy Z, Lopatko Fagerström I, Bader M, Karpman D. Crosstalk between the renin-angiotensin, complement and kallikrein-kinin systems in inflammation. *Nature Reviews Immunology*. 2022;22(7):411-28.
41. Simões e Silva AC, Silveira KD, Ferreira AJ, Teixeira MM. ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas receptor axis in inflammation and fibrosis. *British journal of pharmacology*. 2013;169(3):477-92.

Tabela 1. Características clínicas, antropométricas e laboratoriais materno-fetais de gestantes com e sem obesidade.

Variáveis	IMC (Kg/m ²)		p-valor
	Entre 18.5-24.9 (n=18)	≥ 30 (n=21)	
Idade (anos)	29.50±5.91	32.48±5.06	0.098
Escolaridade (anos)	10.61±3.58	12.38±2.20	0.067
Consulta de pré-natal (n)	6.89±3.07	7.85±2.90	0.318
Altura (cm)	163.17±6.18	159.76±6.85	0.114
IMC pré-gestacional (Kg/m ²)	22.84±1.25	32.78±4.19	<0.0001
Ganho de peso gestacional (Kg)	11.96±3.62	9.77±4.43	0.103
PAS (mmHg)	114.74±18.41	120.06±19.57	0.514
PAD (mmHg)	76.14±16.55	79.36±17.79	0.398
Duração da gravidez (semanas)	38.41±0.51	38.30±0.53	0.528
Glicose (mg/dL)	81.83±6.40	81.24±12.12	0.853
Colesterol total (mg/dL)	190.00±55.32	182.20±39.64	0.618
HDL (mg/dL)	61.67±17.29	55.70±67	0.272
Triglicerídeos (mg/dL)	178.50±40.14	179.90±61.81	0.935
Peso ao nascer (g)	3282.89±334.15	3223.05±337.25	0.582
Comprimento ao nascer (cm)	50.42±2.13	50.31±2.27	0.881
Perímetro cefálico ao nascer (cm)	34.00±2.20	34.19±1.17	0.732
Índice ponderal ao nascer (g/cm ³)	2.57±0.38	2.54±0.29	0.731

IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; HDL: high density lipoprotein (lipoproteína de alta densidade).

Tabela 2. Correlação entre os níveis de expressão de ACE e ACE2 no tecido adiposo com variáveis clínicas, antropométricas e laboratoriais materno-fetais de gestantes com e sem obesidade.

Variáveis	Adipose tissue			
	ACE mRNA expression (a.u.)		ACE2 mRNA expression (a.u.)	
	r	p-valor	r	p-valor
Idade (anos)	0.197	0.230	-0.087	0.597
Escolaridade (anos)	0.276	0.089	-0.115	0.490
Consulta de pré-natal (n)	0.150	0.361	0.031	0.852
Altura (cm)	0.012	0.943	0.139	0.398
IMC pré-gestacional (Kg/m ²)	0.290	0.073	-0.187	0.254
Ganho de peso gestacional (Kg)	-0.186	0.257	0.169	0.305
PAS (mmHg)	0.190	0.201	0.080	0.681
PAD (mmHg)	0.195	0.168	0.094	0.614
Duração da gravidez (semanas)	-0.285	0.079	0.224	0.170
Glicose (mg/dL)	0.174	0.288	0.121	0.462
Colesterol total (mg/dL)	0.080	0.631	-0.004	0.979
HDL (mg/dL)	0.083	0.611	0.062	0.711
Triglicerídeos (mg/dL)	-0.088	0.599	-0.117	0.484
Peso ao nascer (g)	-0.062	0.709	-0.051	0.758
Comprimento ao nascer (cm)	0.039	0.814	0.097	0.558
Perímetro cefálico ao nascer (cm)	-0.032	0.846	-0.219	0.181
Índice ponderal ao nascer (g/cm ³)	-0.119	0.472	-0.110	0.506

IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; HDL: high density lipoprotein (lipoproteína de alta densidade). ACE: enzima conversora de angiotensina. ECA2: enzima conversora de angiotensina 2.

Tabela 3. Correlação entre os níveis de expressão de ACE e ACE2 na placenta com variáveis clínicas, antropométricas e laboratoriais materno-fetais de gestantes com e sem obesidade.

Variáveis	Placenta			
	ACE mRNA expression (a.u.)		ACE2 mRNA expression (a.u.)	
	r	p-valor	r	p-valor
Idade (anos)	-0.012	0.942	-0.106	0.521
Escolaridade (anos)	-0.077	0.640	-0.210	0.200
Consulta de pré-natal (n)	-0.236	0.150	-0.162	0.324
Altura (cm)	-0.051	0.758	0.190	0.247
IMC pré-gestacional (Kg/m ²)	0.290	0.201	-0.351	0.029
Ganho de peso gestacional (Kg)	-0.052	0.755	0.246	0.131
PAS (mmHg)	0.010	0.951	0.209	0.197
PAD (mmHg)	0.060	0.701	0.155	0.341
Duração da gravidez (semanas)	0.003	0.988	0.200	0.240
Glicose (mg/dL)	0.014	0.933	-0.299	0.064
Colesterol total (mg/dL)	-0.138	0.408	-0.364	0.024
HDL (mg/dL)	-0.020	0.904	-0.115	0.492
Triglicerídeos (mg/dL)	-0.212	0.201	0.116	0.489
Peso ao nascer (g)	0.067	0.685	-0.041	0.802
Comprimento ao nascer (cm)	0.231	0.157	-0.254	0.119
Perímetro cefálico ao nascer (cm)	-0.246	0.132	-0.006	0.971
Índice ponderal ao nascer (g/cm ³)	-0.227	0.164	0.286	0.078

IMC: índice de massa corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; HDL: high density lipoprotein (lipoproteína de alta densidade). ACE: enzima conversora de angiotensina. ECA2: enzima conversora de angiotensina 2.

Tabela 4. Correlação entre os níveis de expressão de ACE e ACE2 e o percentual de células inflamatórias no tecido adiposo e placenta.

Variáveis	Tecido Adiposo				Placenta			
	ACE mRNA expression (a.u.)		ACE2 mRNA expression (a.u.)		ACE mRNA expression (a.u.)		ACE2 mRNA expression (a.u.)	
	r	p-valor	r	p-valor	r	p-valor	r	p-valor
Contagem de células inflamatórias na placenta (%)	0.169	0.303	-0.280	0.085				

Contagem de células inflamatórias no tecido adiposo (%)			*****		0.172	0.301	-0.022	0.897

ACE: enzima conversora de angiotensina. ECA2: enzima conversora de angiotensina 2.

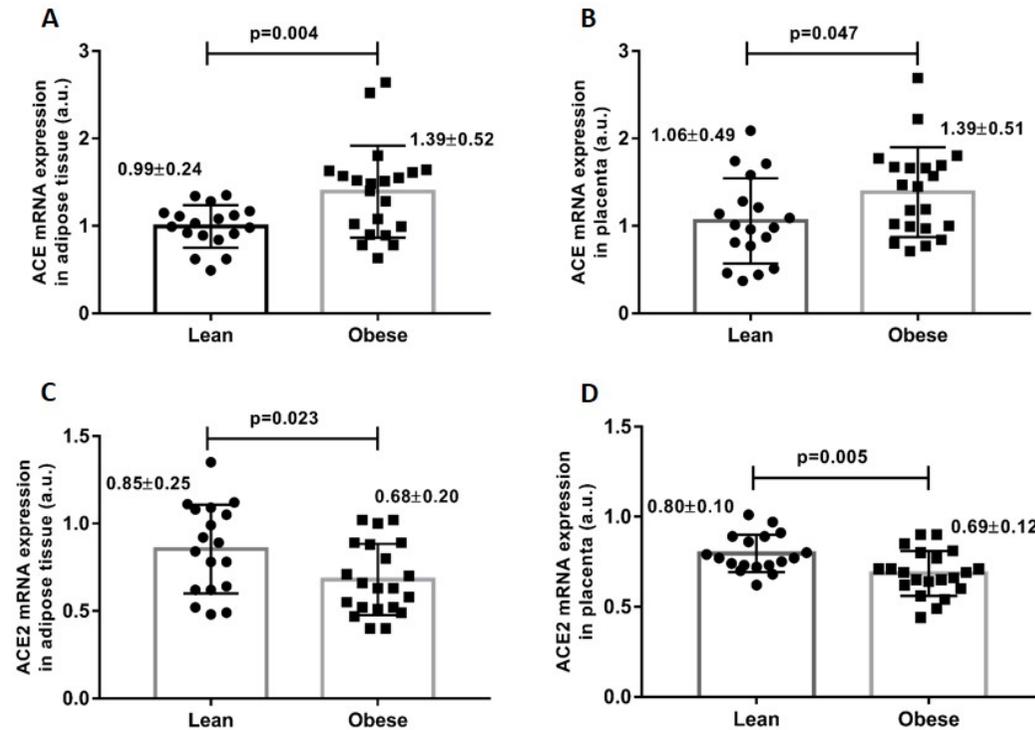


Figura 1. Expressão de mRNA de marcadores do Sistema Renina-Angiotensina. No tecido adiposo: A) ACE. C) ACE2. Na placenta: B) ACE. D) ACE2. Dados apresentados em médias + erro padrão da média (n=5 animais/grupo). Diferenças estatisticamente significativas entre os grupos foram indicadas como $p < 0,05$. Dados analisados por *T-test*.

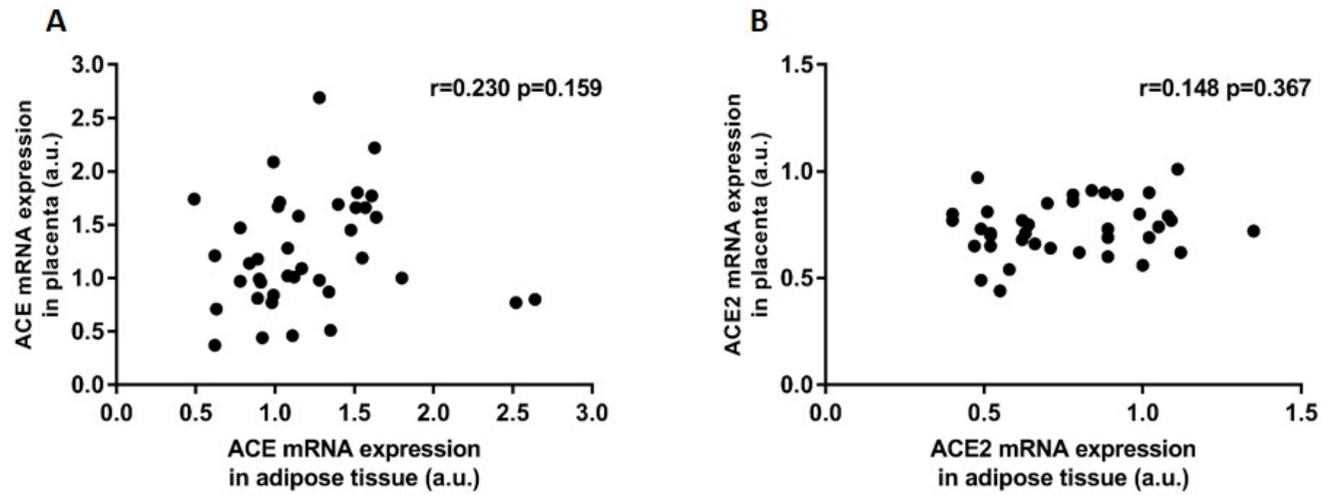


Figura 2. Correlação entre os níveis de expressão de mRNA de ACE (A) e ACE2 (B) na placenta e no tecido adiposo (B). Diferenças estatisticamente para $p < 0,05$. Dados analisados por coeficiente de correlação de Spearman.

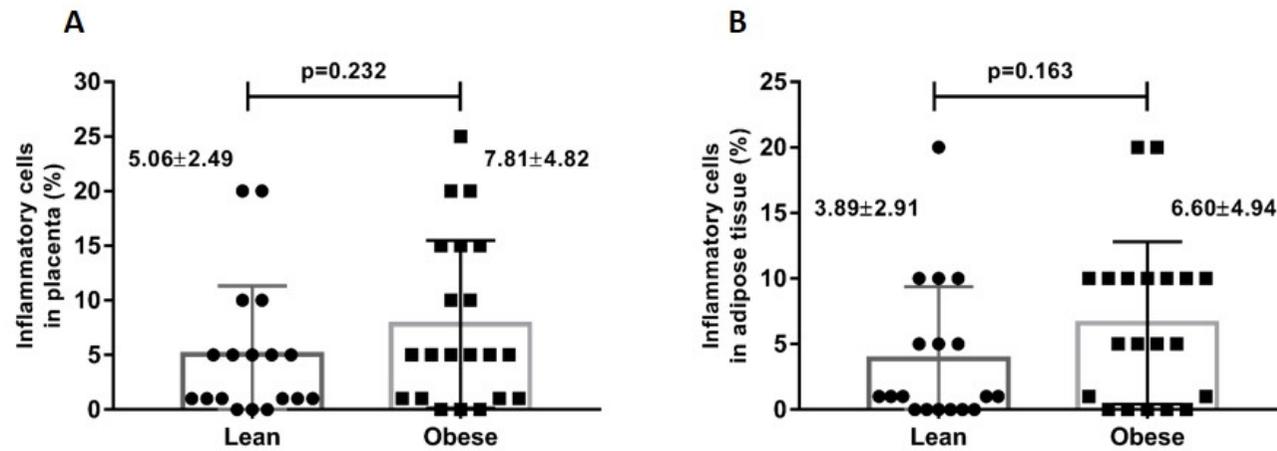


Figura 3. A-B) Contagem de células inflamatórias na placenta e tecido adiposo (omento), respectivamente, obtidas a partir de imagens histológicas em H&E. Dados analisados por *T-test*.

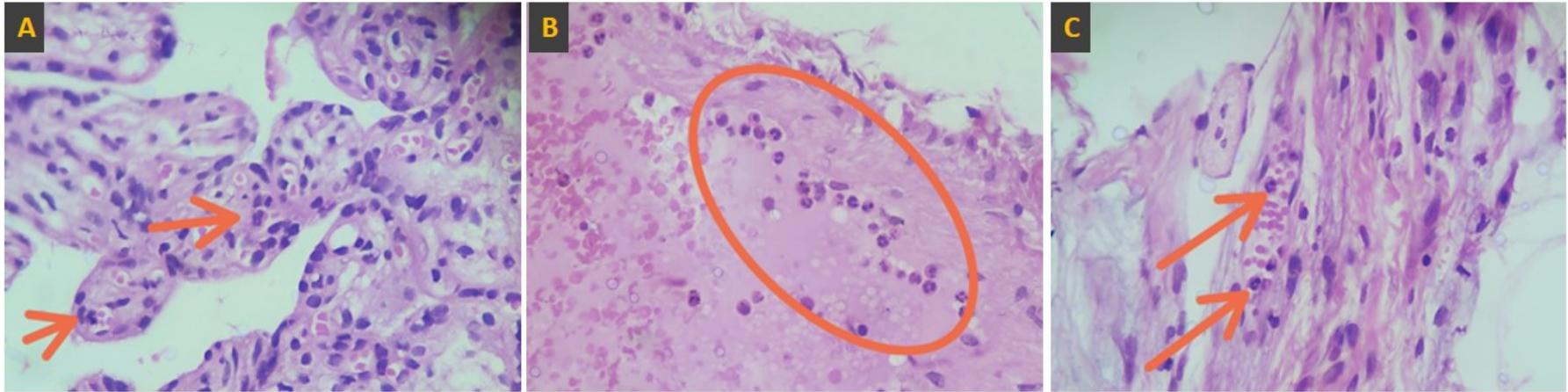


Figura 4. A) A seção corada com H&E da placenta revela neutrófilos associados à vilosidades. B) A seção corada com H&E do omento revela linfócitos e neutrófilos em efluxo vascular. C) A seção corada com H&E do omento revela linfócitos e neutrófilos. Barras de escala = 50 μ m.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que mulheres com obesidade apresentaram maior expressão de ECA e menor de ECA2 na placenta e no tecido adiposo, havendo uma correlação negativa entre os níveis de expressão de ECA2 e IMC pré-gestacional e colesterol total; ademais, não foram se observou diferenças na contagem de células inflamatórias em ambos os tecidos, tampouco correlação com a expressão de ECA e ECA2. Em conjunto, a obesidade materna pode modular a expressão de componentes do SRA, interferindo em parâmetros antropométricos e laboratoriais.

REFERÊNCIAS

1. Collaboration NCDRF. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 2017;390(10113):2627-42.
2. Kelly T, Yang W, Chen CS, Reynolds K, He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *International journal of obesity*. 2008;32(9):1431-7.
3. Silva LESd, Oliveira MMd, Stopa SR, Gouvea EdCDP, Ferreira KRd, Santos RdO, et al. Tendência temporal da prevalência do excesso de peso e obesidade na população adulta brasileira, segundo características sociodemográficas, 2006-2019. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 2021;30.
4. Bahia L, Coutinho ESF, Barufaldi LA, de Azevedo Abreu G, Malhão TA, Ribeiro de Souza CP, et al. The costs of overweight and obesity-related diseases in the Brazilian public health system: cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2012;12(1):440.
5. de Oliveira ML, Santos LM, da Silva EN. Direct healthcare cost of obesity in Brazil: an application of the cost-of-illness method from the perspective of the public health system in 2011. *PloS one*. 2015;10(4):e0121160.
6. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *New England Journal of Medicine*. 2017;377(1):13-27.
7. Withrow D, Alter DA. The economic burden of obesity worldwide: a systematic review of the direct costs of obesity. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2011;12(2):131-41.
8. Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *The New England journal of medicine*. 2017;376(3):254-66.
9. González-Muniesa P, Martínez-González M-A, Hu FB, Després J-P, Matsuzawa Y, Loos RJF, et al. Obesity. *Nature Reviews Disease Primers*. 2017;3(1):17034.
10. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature reviews Immunology*. 2011;11(2):85-97.
11. Balistreri CR, Caruso C, Candore G. The role of adipose tissue and adipokines in obesity-related inflammatory diseases. *Mediators of inflammation*. 2010;2010:802078.
12. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(6):2548-56.
13. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2008;9(5):367-77.
14. Divella R, Mazzocca A, Daniele A, Sabbà C, Paradiso A. Obesity, Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Adipocytokines Network in Promotion of Cancer. *International journal of biological sciences*. 2019;15(3):610-6.
15. Oikonomou EK, Antoniadou C. The role of adipose tissue in cardiovascular health and disease. *Nature reviews Cardiology*. 2019;16(2):83-99.
16. Kawai T, Autieri MV, Scalia R. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. *American journal of physiology Cell physiology*. 2021;320(3):C375-c91.
17. Obesity in Pregnancy: ACOG Practice Bulletin, Number 230. *Obstetrics and gynecology*. 2021;137(6):e128-e44.
18. Chen C, Xu X, Yan Y. Estimated global overweight and obesity burden in pregnant women based on panel data model. *PloS one*. 2018;13(8):e0202183.

19. Aune D, Saugstad OD, Henriksen T, Tonstad S. Maternal body mass index and the risk of fetal death, stillbirth, and infant death: a systematic review and meta-analysis. *Jama*. 2014;311(15):1536-46.
20. Gaillard R, Durmus B, Hofman A, Mackenbach JP, Steegers EA, Jaddoe VW. Risk factors and outcomes of maternal obesity and excessive weight gain during pregnancy. *Obesity*. 2013;21(5):1046-55.
21. Ruager-Martin R, Hyde MJ, Modi N. Maternal obesity and infant outcomes. *Early human development*. 2010;86(11):715-22.
22. Cnattingius S, Villamor E, Johansson S, Edstedt Bonamy AK, Persson M, Wikstrom AK, et al. Maternal obesity and risk of preterm delivery. *Jama*. 2013;309(22):2362-70.
23. Gaudet L, Ferraro ZM, Wen SW, Walker M. Maternal obesity and occurrence of fetal macrosomia: a systematic review and meta-analysis. *BioMed research international*. 2014;2014:640291.
24. Godfrey KM, Reynolds RM, Prescott SL, Nyirenda M, Jaddoe VW, Eriksson JG, et al. Influence of maternal obesity on the long-term health of offspring. *The lancet Diabetes & endocrinology*. 2017;5(1):53-64.
25. Eriksson JG, Sandboge S, Salonen M, Kajantie E, Osmond C. Maternal weight in pregnancy and offspring body composition in late adulthood: findings from the Helsinki Birth Cohort Study (HBCS). *Annals of medicine*. 2015;47(2):94-9.
26. Chandrasekaran S, Neal-Perry G. Long-term consequences of obesity on female fertility and the health of the offspring. *Current opinion in obstetrics & gynecology*. 2017;29(3):180-7.
27. Contu L, Hawkes CA. A Review of the Impact of Maternal Obesity on the Cognitive Function and Mental Health of the Offspring. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(5).
28. Glasstras SJ, Chen H, Pollock CA, Saad S. Maternal obesity increases the risk of metabolic disease and impacts renal health in offspring. *Bioscience reports*. 2018;38(2).
29. Creanga AA, Catalano PM, Bateman BT. Obesity in Pregnancy. *New England Journal of Medicine*. 2022;387(3):248-59.
30. Kelly AC, Powell TL, Jansson T. Placental function in maternal obesity. *Clinical science (London, England : 1979)*. 2020;134(8):961-84.
31. Gutaj P, Sibiak R. The Role of the Adipokines in the Most Common Gestational Complications. 2020;21(24).
32. Sevá Pessôa B, van der Lubbe N, Verdonk K, Roks AJM, Hoorn EJ, Danser AHJ. Key developments in renin–angiotensin–aldosterone system inhibition. *Nature Reviews Nephrology*. 2013;9(1):26-36.
33. Santos SH, Andrade JM. Angiotensin 1-7: a peptide for preventing and treating metabolic syndrome. *Peptides*. 2014;59:34-41.
34. Paz Ocaranza M, Riquelme JA, García L, Jalil JE, Chiong M, Santos RAS, et al. Counter-regulatory renin–angiotensin system in cardiovascular disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2020;17(2):116-29.
35. Monteonofrio L, Florio MC, AlGhatrif M, Lakatta EG, Capogrossi MC. Aging- and gender-related modulation of RAAS: potential implications in COVID-19 disease. *Vascular Biology*. 2021;3(1):R1-R14.
36. Thethi T, Kamiyama M, Kobori H. The link between the renin-angiotensin-aldosterone system and renal injury in obesity and the metabolic syndrome. *Current hypertension reports*. 2012;14(2):160-9.
37. Schütten MTJ, Houben AJHM, Leeuw PWd, Stehouwer CDA. The Link Between Adipose Tissue Renin-Angiotensin-Aldosterone System Signaling and Obesity-Associated Hypertension. *Physiology*. 2017;32(3):197-209.

38. Frigolet ME, Torres N, Tovar AR. The renin–angiotensin system in adipose tissue and its metabolic consequences during obesity. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2013;24(12):2003-15.
39. Dandona P, Dhindsa S, Ghanim H, Chaudhuri A. Angiotensin II and inflammation: the effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockade. *Journal of human hypertension*. 2007;21(1):20-7.
40. Benigni A, Cassis P, Remuzzi G. Angiotensin II revisited: new roles in inflammation, immunology and aging. *EMBO Molecular Medicine*. 2010;2(7):247-57.
41. Di Raimondo D, Tuttolomondo A, Buttà C, Miceli S, Licata G, Pinto A. Effects of ACE-inhibitors and angiotensin receptor blockers on inflammation. *Current pharmaceutical design*. 2012;18(28):4385-413.
42. Rodrigues Prestes TR, Rocha NP, Miranda AS, Teixeira AL, Simoes ESAC. The Anti-Inflammatory Potential of ACE2/Angiotensin-(1-7)/Mas Receptor Axis: Evidence from Basic and Clinical Research. *Current drug targets*. 2017;18(11):1301-13.
43. Simões e Silva AC, Silveira KD, Ferreira AJ, Teixeira MM. ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas receptor axis in inflammation and fibrosis. *British journal of pharmacology*. 2013;169(3):477-92.
44. Gaddam RR, Chambers S, Bhatia M. ACE and ACE2 in inflammation: a tale of two enzymes. *Inflammation & allergy drug targets*. 2014;13(4):224-34.

