

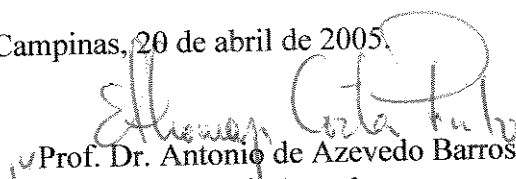
INÊS MARIA CRESPO GUTIERRES PARDO

***ESTUDO DAS ADIPOCITOQUINAS (LEPTINA E
ADIPONECTINA) DO CORDÃO UMBILICAL:***

Relação com o crescimento perinatal

Este exemplar corresponde à versão final da Tese de
Doutorado apresentada à Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de Campinas, para
obtenção do título de Doutor Saúde da Criança e do
Adolescente, Pediatria.

Campinas, 20 de abril de 2005.


Prof. Dr. Antonio de Azevedo Barros Filho
Orientador

CAMPINAS

2005

BIBLIOTECA CENTRAL
DESENVOLVIMENTO
COLEÇÃO
UNICAMP

INÊS MARIA CRESPO GUTIERRES PARDO

***ESTUDO DAS ADIPOCITOQUINAS (LEPTINA E
ADIPONECTINA) DO CORDÃO UMBILICAL:
Relação com o crescimento perinatal***

*Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do título de Doutor em Saúde da
Criança, área de concentração em Pediatria.*

ORIENTADOR: PROF. DR. ANTONIO AZEVEDO BARROS FILHO

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. BRUNO GELONEZE

CAMPINAS

2005

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	TIONICAND
	P214e
V	F
TOMBO BC	67520
PROC.	16-123-06
C	☐
D	☒
PREÇO	11,00
DATA	20/3/06

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

BIB ID: 376127

P214e

Pardo, Inês Maria Crespo Gutierres

Estudo das adipocitoquinas (leptina e adiponectina) do cordão umbilical: relação com o crescimento perinatal / Inês Maria Crespo Gutierres Pardo. Campinas, SP : [s.n.], 2005.

Orientadores : Antonio de Azevedo Barros Filho, Bruno Geloneze
Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Placenta 2. Feto - desenvolvimento. 3. Cordão umbilical. 4. Hormônios sexuais. 5. Peso ao nascer. 6. Leptina. I. Barros Filho, Antonio de Azevedo. II. Geloneze, Bruno. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

(Slp/fcm)

Banca Examinadora da Tese de Doutorado

Orientador:

Prof. Dr. Antonio de Azevedo Barros Filho

Membros:

1. Prof. Dr. Antonio de Azevedo Barros Filho

2. Prof. Dr. Mário José Abdalla Saad

3. Prof. Dr. Angélica Maria Bicudo Zeferino

4. Prof. Dr. Marco Antonio Barbieri

5. Prof. Dr. Antonio Carlos Pires

**Curso de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.**

Data: 2005

DEDICATÓRIA

*Aos meus queridos pais, José e Isabel, pelo amor, apoio e incentivo
em todos os momentos de minha vida.*

Ao Professor Doutor Antônio de Azevedo Barros Filho, com admiração ao incansável pesquisador e médico. Muito obrigada pelo carinho e incentivo digno de um grande mestre. Foi uma honra tê-lo como orientador de minha tese.

Ao meu co-orientador Professor Doutor Bruno Geloneze, pela inestimável ajuda nesta tese. Agradeço seus valorosos ensinamentos, sua amizade e por ter sempre acreditado no que de início era apenas um projeto e um sonho.

Ao Hospital Regional de Sorocaba – PUCSP (corpo clínico e administrativo), por autorizarem prontamente a realização do estudo.

Ao Dr. José Luciano Pereira, chefe de Neonatologia da PUC-SP, pelo auxílio no Centro Obstétrico da PUCSP.

À FAPESP, pelo financiamento dos materiais laboratoriais necessários.

À Sandra Grandin Pereira, pela realização das dosagens hormonais no Laboratório de Endocrinologia da UNICAMP.

À Simone, secretária do Curso de Pós-Graduação em Pediatria da FCM, pelo carinho e disposição constante em ajudar-me.

À Ana Cláudia, minha amiga, pelo apoio constante.

Aos meus pais, José e Isabel, e meus irmãos, Lígia, Isabel e Tadeu, pela torcida constante. Sofremos juntos as expectativas e vibramos com as vitórias.

Ao meu esposo Fernando, pelo carinho e incentivo nesta etapa de minha vida.

Aos meus pequenos pacientes, grande razão desta tese.

“A Ciência compõe-se de erros que, por sua vez, são passos até à Verdade.”

Júlio Verne (1828-1905) romancista francês.

	<i>Pág.</i>
RESUMO.....	<i>x</i>
ABSTRACT.....	<i>xii</i>
1- INTRODUÇÃO.....	<i>16</i>
1.1- Apresentação.....	<i>17</i>
1.2- Leptina	<i>18</i>
1.2.1- Leptina- Histórico e Composição.....	<i>18</i>
1.2.2- Fisiologia da Leptina.....	<i>19</i>
1.2.3- Leptina e Crescimento Perinatal.....	<i>24</i>
1.2.4- Relação da Leptina e Hormônios no cordão umbilical.....	<i>26</i>
1.3- Adiponectina.....	<i>27</i>
1.3.1- Adiponectina – Histórico e Composição.....	<i>27</i>
1.3.2- Fisiologia da Adiponectina.....	<i>28</i>
1.3.3- Adiponectina e Crescimento Perinatal.....	<i>32</i>
1.4- Tabagismo Materno durante a gestação e níveis de leptina e adiponectina no cordão umbilical.....	<i>33</i>
2- OBJETIVOS.....	<i>35</i>

3- METODOLOGIA.....	37
3.1- Tamanho Amostral e Seleção dos Sujeitos.....	38
3.2- Desenho do Estudo.....	38
4- APRESENTAÇÃO DOS ARTIGOS.....	42
4.1- Apresentação do primeiro artigo: Leptina como marcadora do dimorfismo sexual em recém-nascidos. Jornal de Pediatria, 80(4): 305-308, 2004.....	43
4.2- Apresentação do segundo artigo: Does maternal smoking influence leptin levels in term, appropriate-for-gestational age newborns? The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine, 15:408-410, 2004.....	48
4.3- Apresentação do terceiro artigo: Hyperadiponectinemia in newborns: relationship with leptin levels and birth weight. Obesity Research, 12(3): 521-524, 2004.....	52
4.4- Apresentação do quarto artigo: Inverse relationship between cord blood adiponectin concentrations and the number of cigarettes smoked during pregnancy. Diabetes, Obesity and Metabolism, 7(2): 144-147, 2005.....	57
5- DISCUSSÃO GERAL.....	62
6- CONCLUSÕES.....	70
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
8- ANEXO: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	86

	<i>Pág.</i>
Figura 1 Ações da leptina no hipotálamo e em órgãos periféricos (pâncreas, fígado e músculo esquelético).....	21
Figura 2 Ações da adiponectina no tecido adiposo e em órgãos periféricos (fígado, sangue e músculo esquelético).....	29
Figura 3 Possíveis causas do aumento das concentrações de adiponectina no cordão umbilical.....	67

RESUMO

O tecido adiposo secreta uma série de proteínas com importância metabólica, como a leptina e adiponectina. A leptina é uma proteína de 16-kDa, sintetizada pelos adipócitos e também pela placenta. Em camundongos, a leptina apresenta papel importante na função neuroendócrina, na fertilidade, na obesidade e diabetes. Nos seres humanos, a leptina está correlacionada com a massa gorda corpórea e balanço energético, além de apresentar variações conforme o sexo e o desenvolvimento puberal. Estudos recentes apontam que a leptina está diretamente relacionada com o processo de regulação de ganho de peso perinatal. No entanto, não existem estudos no Brasil sobre a variabilidade da leptina conforme o crescimento perinatal. A adiponectina é uma proteína com 244 aminoácidos que está paradoxalmente reduzida em pacientes obesos e está inversamente relacionada com os níveis de leptina. Estudos demonstram que a adiponectina possui propriedades anti-inflamatórias e anti-aterogênicas. Há carências de estudos que avaliem suas concentrações em recém-nascidos. Os objetivos deste estudo mediante a apresentação de quatro artigos foram: avaliar a influência da leptina e da adiponectina do sangue do cordão umbilical no crescimento perinatal, por meio da comparação dos seus valores conforme sexo do recém-nascido, idade gestacional, índice ponderal, peso e comprimento de nascimento; verificar se existe correlação entre leptina e hormônios sexuais (estradiol e testosterona do cordão umbilical) e determinar se o tabagismo materno altera os níveis de leptina e adiponectina do cordão umbilical. Em todos os artigos realizou-se pesquisa transversal, em recém-nascidos adequados para idade gestacional, sendo dosados os níveis das adipocitoquinas do cordão umbilical. A análise dos resultados do primeiro artigo demonstrou que a leptina do cordão umbilical correlaciona-se positivamente com a idade gestacional, peso, comprimento e índice ponderal do recém-nascimento, sugerindo sua participação no processo de crescimento perinatal. Além disso, os recém-nascidos do sexo feminino têm níveis séricos de leptina maiores que os do sexo masculino, sugerindo que provavelmente o dimorfismo sexual relacionado à composição corporal já existe em recém-nascidos. No segundo artigo, por sua vez, observa-se que o tabagismo materno durante a gestação não influencia os níveis de leptina em recém-nascidos adequados para a idade gestacional e com parâmetros antropométricos semelhantes.

No terceiro artigo, observou-se que os níveis de adiponectina do cordão umbilical encontram-se superiores aos encontrados nas populações adultas, possivelmente tanto pelo aumento da produção pelo tecido fetal quanto pela redução de algum fator supressor de sua produção. O último artigo apresenta uma relação inversa entre o número de cigarros fumados pela gestante e os níveis de adiponectina, tendo os recém-nascidos prematuros de mães fumantes apresentado níveis menores de adiponectina do cordão umbilical comparados com os níveis encontrados nos recém-nascidos prematuros de mães não-fumantes.

Concluindo, observou-se que tanto a leptina quanto a adiponectina do cordão umbilical correlacionaram-se moderadamente com parâmetros antropométricos dos recém-nascidos. O tabagismo materno parece não influenciar diretamente os níveis de leptina em recém-nascidos adequados para a idade gestacional. Por outro lado, há uma relação inversa entre o número de cigarros fumados pela gestante e os níveis de adiponectina do cordão umbilical.

ABSTRACT

The adipose tissue secretes a variety of hormones with metabolic importance, such as leptin and adiponectin. Leptin is 16-kDa protein, produced by adipocytes and placenta. In rats, leptin plays an important role in the neuroendocrine function, fertility, obesity and diabetes. In the human beings, leptin is correlated with body fat mass and energy balance, besides this hormone presents variations according to gender and puberal development. Recent studies point that leptin is directly related with the regulation process of neonatal weight gain. However, there are no studies in Brazil about leptin variability in newborns. Adiponectin is a 244-amino acid adipocyte-derived protein that is paradoxically reduced in obese patients and inversely related to leptin concentrations. Some reports demonstrated that adiponectin is a adipokine with anti-inflammatory and antiatherogenic properties. There are very few reports about adiponectin concentrations in newborns. The aim of this study by the presentation of four articles were: to evaluate the influence of cord blood leptin and adiponectin in the neonatal growth, through the comparison of their values according to gender, gestational age, birth weight, length and newborns ponderal index; to verify if there is a correlation between leptin and sexual hormones (estradiol and testosterone in the umbilical cord blood) and to determine whether maternal smoking modifies leptin and adiponectin levels in the umbilical cord blood. Cross-sectional research had been done in all articles, the subjects selected were all appropriate for gestational age newborns and also the adipokines levels had been dosed in the umbilical cord blood. The analysis of the results on the first article demonstrated that the levels of leptin were correlated positively with gestational age, weight, length and newborns' ponderal index, suggesting leptin participation in the process of neonatal growth. Moreover, female newborns had higher levels of leptin compare to males, suggesting that probably the sexual dimorfism related to body composition already exists in newborns. In the second article, it was observed that maternal smoking during pregnancy could not influence leptin levels in term appropriate for gestational age infants with similar growth parameters. In the third article, it was observed that adiponectin levels were higher than those found in adult populations, possible by the increase in the fetal tissue production and/or by the reduction in some unknown supression factor. The last article demonstrated an inverse relationship between the number of cigarettes smoked during pregnancy and adiponectin levels , when

the preterm newborns of smokers mothers had presented lower adiponectin levels compared to the levels of preterm newborns of non-smokers mothers.

Concluding, it was observed that leptin and adiponectin in umbilical cord blood were moderately correlated with antropometrical parameters in newborns. Maternal smoking during pregnancy seems not influence directly leptin concentrations in term appropriate for gestational age newborns. Otherwise, there is an inverse relationship between the number of cigarettes smoked during pregnancy and adiponectin levels in newborns.

1- INTRODUÇÃO

1.1- Apresentação

Na última década novas adipocitoquinas foram descobertas, como a leptina e a adiponectina. Após a descoberta de ambas, novas publicações surgem a cada dia na literatura médica com o intuito de avaliar suas propriedades e funções metabólicas.

A leptina é uma proteína recentemente descoberta, por meio de estudos genéticos realizados por ZHANG *et al.* em 1994. Desde então, uma série de estudos vêm sendo desenvolvidos no sentido de esclarecer seu papel na fisiologia humana. Estudos em camundongos revelaram que a leptina apresenta papel importante na função neuroendócrina. A mutação do gene *ob/ob* que codifica a leptina em roedoras provoca infertilidade, ausência de desenvolvimento puberal, obesidade e resistência à insulina.

A leptina é também um hormônio extremamente importante na regulação da ingestão alimentar e ganho corporal. Ela informa ao cérebro sobre os depósitos de gordura corporal, promovendo o equilíbrio entre o ganho e o gasto energético.

Em 1997 descobriu-se que a leptina é produzida também pela placenta e pelo feto. Isto desencadeou a realização de estudos que investigam o papel da leptina como reguladora do crescimento e indicadora dos depósitos de energia do recém-nascido.

A adiponectina é uma proteína com 244 aminoácidos, sendo descrita pela primeira vez em 1995, através do estudo realizado por SCHERER *et al.* Suas propriedades anti-inflamatórias e anti-aterogênicas imediatamente despertaram o interesse da comunidade científica e vários estudos verificaram o decréscimo de seus níveis em populações diabéticas, insulino-resistentes e cardiopatas.

Ainda são poucos os estudos que investigam estas adipocitoquinas durante o processo de crescimento perinatal e as suas possíveis alterações em condições metabólicas adversas que interferem no crescimento perinatal. Diante dessas lacunas, o estudo da leptina e adiponectina do cordão umbilical pode fornecer dados essenciais para a elucidação dos mecanismos reguladores do processo de crescimento perinatal.

1.2- Leptina

1.2.1- Leptina - histórico e composição

Em 1958, G. R. Hervey demonstrou, em experimentos com camundongos, a presença de um hormônio regulador do peso corpóreo por meio da interação com o hipotálamo (HERVEY 1958). O desenvolvimento de obesidade pela destruição da região ventro medial hipotalâmica em um dos camundongos parabióticos provocava, por outro lado, a morte por inanição no roedor parabiótico sem lesão. Hervey supôs que existiria um “fator de saciedade” produzido em excesso no camundongo parabiótico com lesão cerebral gerando acúmulo de massa gorda. Esse animal tornava-se insensível a este fator pela destruição da área hipotalâmica, enquanto o roedor parabiótico sem lesão tornava-se hipofágico em resposta aos altos níveis do “fator de saciedade” transmitido pela união parabiótica. Este fator que Hervey descreveu em 1958 seria conhecido, no futuro, como leptina.

Experimentos de parabiose em animais com obesidade genética foram extremamente importantes na história da leptina. Hausberger, em 1959, observou que um roedor não obeso suprimia o ganho de peso de um roedor obeso (ob/ob) em parabiose e interpretou esse resultado como indicativo de que a obesidade seria causada pela insuficiência de um fator que seria transmitido com sucesso pela parabiose (HAUSBERGER 1959). Essa previsão estava correta: o camundongo ob/ob não produz leptina (ZHANG et al. 1994).

Em 1994 Zhang e colaboradores identificaram o gene responsável pela obesidade no camundongo ob/ob, em um dos mais intensos estudos genéticos. O gene ob codifica uma proteína chamada leptina (palavra grega – leptos – que significa “magro”) produzida exclusivamente no tecido adiposo. Uma mutação homozigótica na sequência da leptina confirma a causa da obesidade no camundongo ob/ob. Além da obesidade o camundongo ob/ob apresentava uma série de defeitos incluindo hiperfagia, hiperglicemia, resistência à insulina, hipotermia e infertilidade. Todos esses defeitos foram corrigidos mediante a administração de leptina. Estes achados sugerem que a leptina tenha papel importante na obesidade humana (ZHANG et al. 1994).

O homólogo humano da proteína ob foi recentemente clonado em 1995, através dos estudos de Isse (ISSE et al. 1995). Existe uma semelhança de 84% entre o gene da leptina humana e o gene encontrado em camundongos. Pesquisas em humanos confirmaram que as concentrações séricas de leptina, dosadas por técnicas especiais de radioimunoensaio, estão diretamente relacionadas com a porcentagem de massa gorda corporal.

A leptina é uma proteína de 16-kDa altamente hidrofílica no plasma. É produzida principalmente pelo tecido adiposo branco. Outros órgãos produzem leptina em menor quantidade: estômago, placenta, músculo esquelético e tecido adiposo marrom (MASUZAKI et al. 1997; CINTI et al. 1997; BADO et al. 1998).

Em 1997 Tartaglia descreveu os receptores de leptina que apresentam uma forma longa (Ob-Rb) presente no hipotálamo e uma forma menor (Ob-Re) encontrada em vários tecidos periféricos, como nos pulmões, fígado, pâncreas, rins, adrenais e tecidos gonadais (TARTAGLIA 1997). Atualmente os trabalhos descrevem cinco variedades de receptores de leptina, porém somente o receptor Ob-Rb (forma longa) contém um domínio intracelular que é capaz de transmitir o sinal de ligação com a leptina para dentro da célula (NEGRÃO e LICÍNIO 2000). O receptor Ob-Rb faz parte da família de receptores das citocinas, ativando o sistema JAK/STAT 3 de transdução do sinal após sua ligação com a leptina (TOUW et al. 2000). Uma forte presença da expressão do gene destes receptores é vista nos diversos núcleos hipotalâmicos que regulam a ingestão alimentar e o controle do gasto energético (MERCER et al. 1996). Estudos demonstram que problemas neste receptor Ob-Rb levam à obesidade, indicando claramente que as propriedades da leptina na redução do peso são centrais (COHEN et al. 1996).

1.2.2- Fisiologia da leptina

A leptina é um hormônio extremamente importante na regulação da ingestão alimentar e ganho corporal. A leptina atua no hipotálamo, estimulando o gasto energético e suprimindo o apetite. Ela informa ao cérebro sobre os depósitos de gordura corporal,

promovendo o equilíbrio entre o ganho e o gasto energético. Desta forma, se a leptina sérica está baixa, o apetite será estimulado e o gasto energético limitado. Por outro lado, se a leptina está elevada, o apetite é reduzido e o gasto energético estimulado (PELLEYMOUNTER et al. 1995).

No experimento com roedores, a administração de leptina provocou perda de peso, reduziu a ingestão alimentar e aumentou o gasto energético (HALAAS et al. 1995; CAMPFIELD et al. 1995). Nos humanos, entretanto, os obesos têm altos níveis de leptina sérica. Uma das exceções é o caso descrito por Montague, em que duas crianças obesas apresentavam obesidade pela ausência de leptina, ocasionada pela mutação do gene *ob*, similar aos experimentos com roedores (MONTAGUE et al. 1997). Na grande maioria dos casos, os altos níveis de leptina sugerem a existência de resistência à leptina, análoga à resistência de insulina existente no diabetes tipo 2. Contudo, o exato mecanismo desta resistência ainda não foi elucidado (CONSIDINE et al. 1996). Estudo recente indica que esta resistência esteja relacionada com anormalidades na ativação do receptor de leptina e problemas no transporte de leptina através da barreira hemato-encefálica (EL-HASCHIMI et al. 2000). Pacientes com resistência à insulina e obesidade visceral apresentam menores concentrações de receptores de leptina e menor razão entre leptina ligada ao receptor e leptina livre (SANDHOFER et al. 2003).

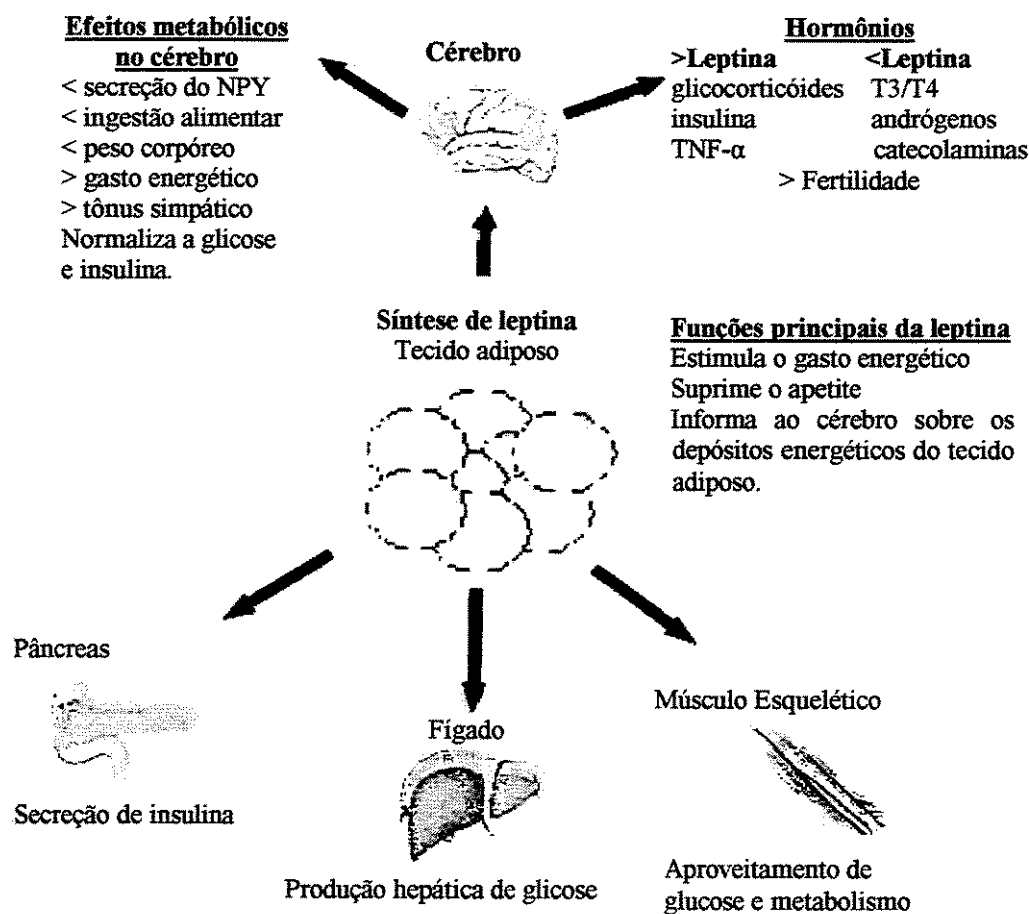


Figura 1- Ações da leptina no hipotálamo e em órgãos periféricos (pâncreas, fígado e músculo esquelético).*

* Adaptado de MEIER, U. & GRESSNER, A. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin and resistin. *Clin Chem*, 50(9): 1511-25, 2004.

Além de seus efeitos metabólicos, a leptina influencia vários eixos endócrinos (Figura 1). Está demonstrado que o decréscimo nos níveis de leptina em resposta ao jejum é responsável pela supressão do eixo hipotálamo-pituitário-gonadal e de alterações em

outros eixos (VENIANT & LEBEL 2003). Conforme esse estudo, a leptina parece ser um elo entre tecido adiposo, centro hipotalâmico e sistema reprodutivo.

Como já citado, o receptor de forma longa da leptina no cérebro está localizado principalmente no hipotálamo e no plexo coróide. Estes receptores possivelmente modulam a ingestão alimentar através de outros neurotransmissores que aumentam (orexígenos) ou diminuem (anorexígenos) a ingestão alimentar (SEELY e SCHWARTZ 1999). Particularmente, a leptina age em quatro peptídeos produzidos em neurônios do núcleo arqueado: o neuropeptídeo Y (NPY), o peptídeo relacionado à cepa agouti (AGRP), a pró-opiomelanocorticotropina (POMC) e o fator de transcrição cocaína-anfetamina dependente (CART). Embora ainda não seja um modelo completo, postula-se que a leptina suprima a atividade dos neurônios que produzem NPY/AGRP (efeito orexígeno) e que ela estimule a atividade de neurônios produtores de POMC ou CART (efeito anorexígeno). Assim, o sistema efector anabólico, composto pelo neuropeptídeo Y e AGRP, é ativado por baixos níveis de leptina durante o balanço energético negativo, provocando o aumento do apetite e decréscimo do gasto energético. O neuropeptídeo Y, além de ser um potente estimulador do apetite, também está envolvidos na regulação de outros hormônios como na supressão do GH (hormônio do crescimento) e das gonadotropinas e na estimulação do eixo pituitário-adrenal (ROHNER 2002). Já o outro sistema, catabólico, composto pelo POMC e CART, é ativado pelos altos níveis de leptina sérica ocasionando diminuição da ingestão alimentar e aumento do gasto energético (SCHWARTZ et al. 2000).

A gordura corpórea é o maior determinante das concentrações séricas de leptina. Assim, em condições normais, a leptina reflete a proporção de gordura corporal, em relação exponencial (FRAYN et al. 2003). A síntese de leptina é modulada por variáveis hormonais e não-hormonais. Estimulantes de sua produção são os glicocorticóides, o aumento da ingestão alimentar e a insulina. Supressores são o jejum e os agonistas dos adrenoreceptores $\beta 3$ (LEIBEL 2002).

Pacientes com lipodistrofia apresentam menores concentrações de leptina. A administração de leptina nestes pacientes reduz a esteatose hepática, melhorando a sensibilidade à insulina (ORAL et al. 2002). A supressão da enzima estearil-CoA desaturase-1 corrige o padrão hipometabólico da deficiência da leptina,

indicando que a leptina não atua somente no centro hipotalâmico do apetite como também a nível hepático (DOTSCH et al. 2003).

Nos tecidos periféricos, a sinalização insulínica envolve a ativação do sistema IRS1-PI3K (insulin receptor substrate-phosphatidylinositol 3-kinase. Estudo publicado em 2003 (NISWENDER et al.) demonstrou que a sinalização insulínica a nível hipotalâmico também está relacionada com a ativação da via PI3K, combinando a isto o fato de que a leptina ativa a via PI3K no hipotálamo, este estudo sugeriu que existisse um mecanismo de *cross talk* entre a sinalização de insulina e leptina. Complementando isto, o importante estudo brasileiro também publicado em 2003 (CARVALHEIRA et al.), demonstrou que realmente existe *cross-talk* entre leptina e insulina ao nível de JAK2 e STAT5b no fígado de ratos e mais recentemente confirmou *cross-talk* entre leptina e insulina no hipotálamo de ratos (CARVALHEIRA et al. 2005).

Outro papel da leptina, além da sua atividade na regulação do peso corporal, é a possibilidade dela ser o sinal bioquímico que informa ao cérebro se as reservas energéticas são suficientes para sustentar o início da puberdade e a reprodução (CUNNINGHAM et al. 1999). Os estudos de leptina realizados em adolescentes em diferentes estádios de Tanner encontraram resultados interessantes. Na maioria deles encontrou-se padrão diferente em cada sexo. No menino, os níveis de leptina aumentam no início da puberdade (até G2-G3), quando sofrem queda progressiva em seus valores até G5 para então manter os níveis encontrados em adultos. Nas meninas, os níveis de leptina também aumentam no início da puberdade, atingem um platô em G3 e novamente aumentam até G5, quando atingem valores encontrados em mulheres adultas (CLAYTON et al. 1997; BLUM et al. 1997). Através destes achados, sugere-se que o progressivo aumento nos valores da leptina seja necessário para o desencadear da puberdade. Além disso, o incremento dos valores de leptina no sexo feminino nas fases finais do desenvolvimento puberal provavelmente esteja relacionado à função reprodutiva (CLAYTON et al. 1997), enquanto o declínio nos valores de leptina no sexo masculino durante a puberdade esteja associado à elevação dos níveis de andrógenos (ADAN et al. 1999).

1.2.3- Leptina e crescimento perinatal

O crescimento fetal é caracterizado por uma fase inicial de organização e diferenciação tecidual, associada a uma intensa proliferação celular. Corresponde ao crescimento embrionário e varia de 5cm/mês durante o terceiro mês de gestação até 10cm/mês entre o quarto e quinto mês. Uma fase posterior é caracterizada por um crescimento menor (2 a 3cm/mês) e intenso ganho de peso (MONTE et al. 1998).

Fatores genéticos, suprimento transplacentário de oxigênio e de substratos, além das ações endócrina e parácrina de hormônios produzidos pelo feto, placenta ou mãe, são os principais moduladores do crescimento fetal (MONTE et al. 1998).

O controle hormonal do crescimento perinatal é exercido por hormônios de origem placentária ou de origem fetal. A regulação pode ser indireta, por modular o crescimento e fluxo sanguíneo placentário, ou direta, pela transferência de hormônio placentário ao feto. Entre estes hormônios estão: GH fetal, a insulina, a somatomedina, os hormônios tireoidianos e os esteróides sexuais (VAN DEN BRANDLE 1990). Estudos recentes sugerem que a leptina também esteja envolvida nesse processo.

A leptina pode ser dosada tanto no fluido amniótico quanto no cordão umbilical a partir de 25 semanas de gestação (MATSUDA et al. 1997). Enquanto a leptina proveniente do líquido amniótico reflete o ambiente materno, a leptina do cordão é derivada tanto da placenta como do tecido fetal (SCHUBRING et al. 1997). Aliás todos os estudos publicados até o momento são unânicos em confirmarem que a leptina dosada no sangue materno correlaciona-se apenas com a adiposidade materna (HASSINK et al. 1997; TAMURA et al. 1998; SCHUBRING et al. 1998).

A presença de leptina no sangue de cordão umbilical humano tem sido demonstrada em alguns estudos a partir de 1997 (MATSUDA et al. 1997; KOISTINEN et al. 1997; HELLAND et al. 1998). Koistinen e colaboradores encontraram associação positiva entre crescimento dos recém-nascidos e concentração de leptina no cordão umbilical. Estes autores descreveram que a média de leptina no cordão umbilical dos recém-nascidos pequenos para idade gestacional (PIG) foi de 3,3ng/ml, enquanto que nos

grandes para idade gestacional (GIG) foi de 35,7ng/ml, em comparação com 14,5 ng/ml nos recém-nascidos adequados para a idade gestacional (AIG). Isto representa um valor 146% maior nos GIG que nos AIG e 78% menor nos PIG que nos AIG (KOISTINEN et al. 1997).

Matsuda e colaboradores (MATSUDA et al. 1997) realizaram um estudo com 82 recém-nascidos, de idade gestacional entre 36-42 semanas e peso de nascimento entre 2306-4128g, que encontrou associação positiva entre peso de nascimento e leptina no cordão umbilical. Helland também descreveu essa mesma associação em seu estudo publicado em 1997 (HELLAND et al. 1998).

Um estudo francês publicado em 1999 demonstrou que os recém-nascidos GIG assimétricos de mães não-diabéticas apresentavam níveis mais elevados de leptina do cordão umbilical que os GIG simétricos. É o único estudo até o momento que sugere que a macrosomia assimétrica está associada com anormalidades nas concentrações tanto de insulina quanto de leptina do cordão umbilical (LEPERCQ et al. 1999).

Além do peso de nascimento, outros fatores correlacionam-se com a leptina do cordão umbilical, como o sexo, o índice ponderal e as pregas cutâneas do recém-nascido. Estudo de coorte (ONG et al. 1999) realizado em 197 recém-nascidos na Inglaterra demonstrou que os recém-nascidos do sexo feminino têm níveis maiores de leptina que os do sexo masculino, independente do tamanho de nascimento. O índice ponderal (kg/m^3) ao nascimento neste mesmo estudo também associou-se significativamente com os níveis de leptina do cordão. Resultados semelhantes podem ser encontrados em outros estudos (TOME et al. 1997; YANG et al. 2000).

A presença de diabetes materno, seja diabetes mellitus tipo I ou gestacional, parece comprometer os níveis de leptina do cordão umbilical (GROSS et al. 1998; PERSSON et al. 1999). Estudo sueco realizado em 35 amostras de sangue do cordão de filhos de mães diabéticas em comparação com um grupo controle de 96 recém-nascidos normais, demonstrou que os filhos de mães diabéticas apresentavam concentrações de leptina três vezes superiores ao grupo controle (PERSSON et al. 1999). Estes níveis superiores podem refletir a influência que a hiperinsulinemia crônica fetal exerça sobre a

concentração da leptina, sugerindo que o diabetes materno, ainda que controlado, influencia o metabolismo da leptina (GROSS et al. 1998).

Um estudo publicado em 2000 também confirma a importância da leptina no crescimento perinatal. Por meio deste estudo verificou-se que a leptina do cordão umbilical correlaciona-se negativamente com ICTP (*carboxy-terminal telopeptide type I collagen*) que é um marcador de reabsorção óssea, sugerindo que a leptina provavelmente diminui a reabsorção óssea, com conseqüente aumento da massa óssea (OGUEH et al. 2000).

Fatores genéticos e ambientais também estão associados com o aumento dos níveis de leptina do cordão umbilical. Assim, a obesidade paterna, o nascimento na primavera ou no verão e antes do meio-dia são relacionados com níveis maiores de leptina (TARQUINI et al. 1999).

1.2.4- Relação da leptina e hormônios no cordão umbilical

A relação da leptina do sangue do cordão umbilical com outros fatores de crescimento ainda não está devidamente elucidada. A existência de um número reduzido de estudos com este objetivo e a casuística pequena ocultam resultados concretos.

De todos os hormônios do cordão umbilical, a insulina é o mais estudado. Alguns estudos encontraram correlação positiva da insulina com a leptina (KOISTINEN et al. 1997; LEPERCQ et al. 1999), enquanto outros não demonstraram tal associação (SCHUBRING et al. 1998; YANG et al. 2000).

Os esteróides sexuais também já foram investigados. Um estudo norte-americano demonstrou que a administração exógena de esteróide na gestação aumenta os níveis de leptina no cordão umbilical (SHEKHAWAT et al. 1998) enquanto estudo húngaro encontrou uma correlação negativa entre os níveis de testosterona e leptina (ERTL et al. 1999). Entretanto, estudo publicado mais recentemente não encontrou associação entre leptina e hormônios sexuais (TAKAHASHI et al. 2002).

A relação entre leptina e cortisol do cordão umbilical também é contraditória. Enquanto um estudo correlaciona a leptina com cortisol no cordão umbilical encontrando forte associação (MAFFEIS et al. 1999), outro descarta tal associação (KIREL et al. 2000).

A relação da leptina com IGF-I foi pesquisada em alguns estudos até o momento (MAFFEIS et al. 1999; YANG et al. 2000; LO et al 2002; MANDERSON et al. 2003). Os estudos de LO et al. (2002) e MANDERSON et al. (2003) encontraram correlação positiva entre leptina e IGF-I, porém em outros não foi encontrada tal associação (MAFFEIS et al. 1999; YANG et al. 2000). Estudos futuros poderão esclarecer melhor as associações da leptina com os diversos fatores de crescimento.

1.3- Adiponectina

1.3.1- Adiponectina – histórico e composição

A adiponectina é um hormônio descrito pela primeira vez em 1995, por SCHERER et al. É uma proteína que é sintetizada exclusivamente pelo tecido adiposo, produzida durante a diferenciação do adipócito e que corresponde a 0,01% do total de proteínas plasmáticas.

É uma proteína de 244 aminoácidos, com massa molecular de 30 kDa. Sua estrutura primária é similar ao fator de complemento globular C1q.

A adiponectina também é conhecida como ACRP30 (adipocyte complement-related protein of 30 kDa), adipoQ, GBP28 (gelatin-binding protein of 28 kDa) e apM1 (adipose most abundant gene transcript 1).

A adiponectina circula no plasma como estrutura trimérica, hexamérica e polimérica. A adiponectina monomérica não foi encontrada até o momento na circulação sanguínea e parece estar restrita ao adipócito. A adiponectina circula no plasma em concentrações que variam entre 5 a 30 µg/ml. Os métodos para detectar as concentrações plasmáticas da adiponectina compreendem técnicas de radioimunoensaio e enzima-imunoensaio (BERG et al. 2002).

São descritos dois receptores de adiponectina: adipoR1 e adipoR2. AdipoR1 é produzido no músculo esquelético enquanto adipoR2 é sintetizado no tecido hepático (YAMAUCHI et al. 2003). Outro estudo publicado em 2003, demonstrou a presença dos dois receptores de adiponectina nas células β pancreáticas (KHARROUBI et al. 2003).

1.3.2- Fisiologia da adiponectina

A síntese e secreção da adiponectina é regulada por vários mecanismos, apresentando diferentes ações em órgãos periféricos (**Figura 2**). As principais funções da adiponectina estão relacionadas com o decréscimo nas concentrações séricas de glicose e redução da resistência insulínica (MEIER & GRESSNER 2004).

Síntese de Adiponectina
Tecido Adiposo

Principais funções da adiponectina:
Diminui resistência insulínica
Reduz concentrações séricas de glicose

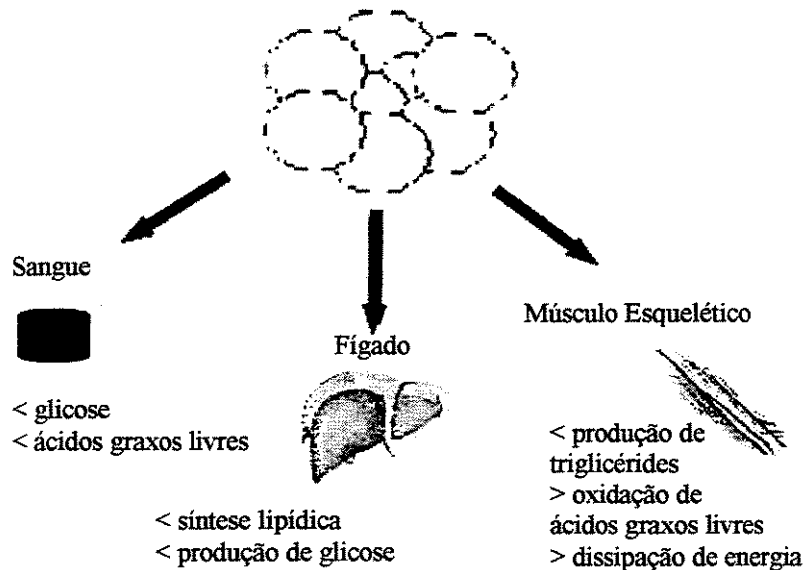


Figura 2- Ações da adiponectina no tecido adiposo e em órgãos periféricos (fígado, sangue e músculo esquelético). *

* Adaptado de MEIER, U. & GRESSNER, A. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin and resistin. *Clin Chem*, 50(9): 1511-25, 2004.

Os adipócitos secretam normalmente vários hormônios como adiponectina, leptina, sensibilizadores à insulina. Porém quando ocorre hipertrofia da célula adiposa, há decréscimo na produção destes hormônios e aumento daqueles ligados com resistência à insulina. Assim, os níveis de adiponectina em adultos obesos são menores que em indivíduos não obesos, ainda que a adiponectina seja produzida exclusivamente no tecido

adiposo. Isto contrasta com as adipocitoquinas relacionadas com resistência insulínica, cujos níveis estão aumentados em pacientes obesos em proporção direta com o aumento da massa corporal (ARITA et al. 1999). Foi demonstrado que TNF- α é capaz de reduzir a expressão e secreção da adiponectina (KAPPES & LOFFLER 2000). Assim é possível especular que tanto TNF- α quanto as outras adipocitoquinas possam parcialmente ser responsáveis pela diminuição da produção da adiponectina em indivíduos obesos.

A adiponectina diminui a síntese lipídica e produção hepática de glicose, reduzindo as concentrações séricas de glicose e ácidos graxos livres. Além disso, há redução na produção de triglicérides e oxidação de gorduras, aumentando a dissipação energética no músculo esquelético. O mecanismo pelo qual a adiponectina regula a oxidação lipídica parece estar ligado com proteínas do metabolismo dos triglicérides como CD36, PPAR γ (TOMAS et al. 2002). A adiponectina também correlaciona-se negativamente com a apolipoproteína B e índices aterogênicos, conforme estudo realizado em pacientes do sexo feminino não diabéticas, publicado por MATSUBARA et al. (2002). Estes achados sugerem que a hipoadiponectinemia observada na dislipidemia pode influenciar o risco aterogênico observado na síndrome metabólica.

A adiponectina também melhora a sensibilidade hepática à insulina, tanto por efeito direto quanto indireto, diminuindo as concentrações lipídicas. Demonstrou-se por meio do estudo realizado por YAMAUCHI et al. (2001) que a adiponectina administrada a roedores lipodistróficos aumenta a fosforilação da tirosina, provocando um aumento da sensibilidade à insulina. Resultados similares foram encontrados em estudos em humanos (STEFAN et al. 2002). Outro estudo (YAMAUCHI et al. 2002) descreve que a adiponectina estimula a utilização de glicose através da ativação da 5'-AMP quinase. Desta forma, a adiponectina teria um papel importante na regulação do consumo de energia e metabolismo glícido e lipídico.

Diversos estudos estabeleceram uma forte correlação entre a adiponectina e sensibilidade à insulina, tanto em experimentos in vivo quanto in vitro (BERG et al. 2001; COMBS et al. 2001). A adiponectina parece não ter uma ação direta sobre a secreção de insulina, uma vez que os níveis de insulina estão reduzidos no início dos experimentos e permanecem baixos mesmo depois da injeção de adiponectina. Como citado anteriormente,

YAMAUCHI et al. (2001) demonstrou aumento da sensibilidade à insulina e melhora da hiperglicemia em ratos obesos, diabéticos e lipoatróficos após uma infusão fisiológica de adiponectina. Estudos em ratos com clamp euglicêmico hiperinsulinêmico demonstraram que o aumento abrupto dos níveis circulantes de adiponectina provoca a supressão da neoglicogênese hepática, ainda que a captação de glicose a nível muscular permaneça inalterada. Isto está associado a uma diminuição na expressão das enzimas PEPCK e glucose 6 fosfatase, indicando que a regulação destas enzimas contribuiria para o mecanismo de ação da adiponectina.

Estudos em macacos rhesus geneticamente predispostos a desenvolver resistência insulínica demonstraram que os níveis de adiponectina diminuem proporcionalmente com o aumento da resistência insulínica. Neste estudo encontrou-se uma correlação negativa entre a adiponectina e o peso corporal e uma correlação positiva com a captação de glicose estimulada pela insulina. Nestes macacos, o decréscimo nos níveis de adiponectina precede a uma condição hiperglicêmica (HOTTA et al. 2001). A presença de hiperinsulinemia é um mecanismo possível para supressão da adiponectina. Entretanto, parece improvável que a hiperinsulinemia per si seja um mediador para baixar a adiponectina, uma vez que pacientes diabéticos tipo 2 possuem níveis baixos de adiponectina e de insulina também. BOGAN et al. (1999) demonstrou que a secreção de adiponectina pelo tecido adiposo requer fosfatidil inositol 3 quinase (PI-3K) que é um intermediário da atividade da insulina. O substrato 1 (IRS-1) do receptor de insulina associado com a atividade da PI-3K está diminuído nos adipócitos de diabéticos tipo 2. Assim, é possível que a diminuição da atividade da PI-3K em diabéticos tipo 2 contribua para a diminuição nos níveis da adiponectina (SMITH et al. 1999). Estudo em humanos e ratos lipodistróficos demonstraram que os níveis de adiponectina são extremamente baixos nestes pacientes, provavelmente pela ausência de tecido adiposo e/ ou resistência insulínica (MATSUBARA et al. 2002; HAQUE et al. 2002). YAMAUCHI et al. (2001) verificou que roedoras tratadas com doses fisiológicas de adiponectina diminuíam significativamente tanto a hiperglicemia quanto a hiperinsulinemia.

Estudo realizado em índios Pimas e indivíduos caucasianos demonstrou que níveis inferiores de adiponectina estão correlacionados com maior resistência à insulina e hiperinsulinemia (WEYER et al. 2001). HOTTA et al. (2000) verificou que existe uma

correlação negativa entre os níveis de adiponectina e triglicérides e uma correlação positiva entre as concentrações de adiponectina e os níveis de HDL-colesterol em pacientes diabéticos tipo 2.

MATSUBARA et al. (2002) encontraram uma correlação inversa entre os níveis de adiponectina e de leptina.

A redução dos níveis de adiponectina também ocorre em indivíduos hipertensos, diabéticos e pacientes com cardiopatia coronariana. Em populações adultas, homens apresentam níveis inferiores comparados com as mulheres (WEYER et al. 2001).

Em recente estudo, PISCHON et al. (2004), estudando os níveis de adiponectina em homens durante o período de 6 anos, concluiu que a adiponectina está relacionada de forma inversamente proporcional ao risco coronariano, de forma independente a outros fatores de risco, como lipídeos e componentes inflamatórios.

Estudos experimentais indicaram que a adiponectina possui propriedades antiaterogênicas e anti-inflamatórias. A adesão dos monócitos no endotélio e a subsequente diferenciação a macrófagos é considerada essencial para o desenvolvimento da enfermidade vascular. OUCHI et al. (2001) descreveu que a adiponectina tem efeitos sobre a adesão dos monócitos no endotélio, sobre a diferenciação mielóide e produção de citocinas pelos macrófagos e fagócitos. A adiponectina inibe a produção de TNF- α , uma citocina que tem efeitos diretos sobre a adesão molecular. Este mesmo estudo também demonstrou que a adiponectina in vitro evita a transformação do macrófago a célula espumosa.

1.3.3- Adiponectina e crescimento perinatal

LINDSAY et al. (2003) realizaram o primeiro estudo sobre as concentrações de adiponectina no cordão umbilical. Até então, só existiam estudos em crianças maiores de 5 anos, que encontraram uma correlação inversa entre os níveis de adiponectina e adiposidade, o que confirma os resultados descritos na população adulta (STEFAN et al.

2002). Assim, nosso artigo, publicado em 2004 e apresentado a seguir, foi o segundo estudo a investigar a adiponectina do cordão umbilical.

O estudo de LINDSAY et al. pesquisou os níveis de adiponectina em recém-nascidos de mães diabéticas (n=134) comparando-os com um grupo controle de neonatos saudáveis (n=45). Neste artigo, não foi encontrada nenhuma correlação entre adiponectina e insulina, leptina ou com medidas de adiposidade dos recém-nascidos. Os níveis de adiponectina foram bem superiores (duas-três vezes) aos encontrados na população adulta.

1.4- Tabagismo materno durante a gestação e níveis de leptina e adiponectina no cordão umbilical

O baixo peso ao nascer é um dos mais importantes determinantes da mortalidade perinatal (BROOKE et. al 1989). O peso ao nascer é inversamente relacionado com a prematuridade (PEREIRA e GEORGIEFF 1992), com o aumento de lipídios do sangue do cordão umbilical (ORTEGA et al. 1996) e com o tabagismo materno durante a gravidez (HASTE et al. 1995; AHLSTEN et al. 1993; SPINILLO et al. 1994).

O tabagismo materno é apontado como o responsável por uma série de anormalidades neurológicas e metabólicas observadas nos recém-nascidos destas mães fumantes, comprometendo o fornecimento de nutrientes, oxigênio e depósitos energéticos do feto (RANTAKALLIO 1983; LINDBLAD et al. 1988; BERATIS et al. 1994).

Em 1997 foi publicado o primeiro estudo que investigava a possível influência do tabagismo materno nos níveis da leptina do cordão umbilical (MANTZOROS et al. 1997). Foi realizado com amostras de sangue do cordão de 62 recém-nascidos, sendo 12 prematuros, todos de mães fumantes, comparados com um grupo controle de 62 recém-nascidos de mães não-fumantes. Neste estudo foi demonstrado que as concentrações de leptina foram significativamente menores tanto em recém-nascidos de termo como nos prematuros de mães que haviam fumado durante a gestação, em comparação com o grupo controle. Outro achado deste estudo foi a constatação de que há

uma relação direta entre o número de cigarros consumidos pela mãe durante a gestação e os níveis de leptina do cordão umbilical, ou seja, quanto maior o consumo de cigarros, menor foi o valor de leptina encontrado no cordão umbilical. Por outro lado, estudo de HELLAND et al. (2001) demonstrou que não há influência do tabagismo sobre os níveis de leptina. A escassez de estudos sobre este tema e a pequena amostragem podem ser fatores causadores de resultados controversos.

Não há estudos até o momento sobre a influência do tabagismo materno nos níveis de adiponectina do cordão umbilical. O último artigo apresentado a seguir é o primeiro estudo sobre este assunto na literatura, investigando os níveis de adiponectina em recém-nascidos de termo e prematuros de mães fumantes comparando-os com grupos controle de neonatos de mães não-fumantes.

2- OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

- Avaliar a relação dos níveis de leptina e adiponectina no sangue do cordão umbilical com o crescimento perinatal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS (primeiro artigo apresentado)

- Comparar os níveis de leptina no sangue do cordão umbilical conforme o sexo do recém-nascido, idade gestacional, índice ponderal, peso e altura de nascimento.
- Avaliar a relação entre leptina no cordão e os níveis de estradiol e testosterona, também dosados no sangue do cordão.

OBJETIVO ESPECÍFICO (segundo artigo apresentado)

- Determinar se o tabagismo materno altera os níveis de leptina no cordão umbilical.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS (terceiro artigo apresentado)

- Comparar os níveis de adiponectina no sangue do cordão umbilical conforme o sexo do recém-nascido, idade gestacional, índice ponderal, peso e altura de nascimento.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS (quarto artigo apresentado)

- Determinar se o tabagismo materno altera os níveis de adiponectina no cordão umbilical em recém-nascidos de termo e prematuros adequados para a idade gestacional.
- Verificar se existe correlação entre os níveis de adiponectina e o número de cigarros fumados durante a gestação.

3- METODOLOGIA

3.1- Tamanho amostral e seleção dos sujeitos

Para a realização dos artigos apresentados no próximo capítulo utilizou-se de uma amostra de recém-nascidos vivos, adequados para a idade gestacional, classificados quanto ao sexo, peso e comprimento ao nascer, idade gestacional e índice ponderal. No segundo e quarto artigo o tabagismo materno durante a gestação também foi uma variável estudada. Para a dosagem da leptina e da adiponectina foram coletadas amostras de sangue do cordão umbilical obtidas imediatamente após o nascimento, no Hospital Regional, que é o responsável pela maioria dos partos na cidade de Sorocaba.

O número de amostras necessárias à realização deste estudo foi determinada com base na ocorrência prévia relatada por KOISTINEN et al. (1997). Os valores de α e β admitidos para este cálculo foram de 0,05 e de 0,10 respectivamente (HULLEY e CUMMINGS 1988).

A idade gestacional dos recém-nascidos foi obtida pela data da última menstruação e confirmada pelo Capurro (CAPURRO et al. 1978). A ultrassonografia fetal não foi considerada em nosso estudo pela impossibilidade do exame em toda a amostra no primeiro trimestre da gestação.

Em todos os artigos selecionou-se apenas recém-nascidos adequados para a idade gestacional de acordo com a curva de Alexander (ALEXANDER et al. 1996).

O índice ponderal (índice de Rohrer) (ROHRER 1921; MILLER e HASSANEIN 1971), que é o peso dividido pelo comprimento ao cubo e multiplicado por 100, foi calculado para cada recém-nascido.

O tabagismo materno foi considerado como o hábito de fumar 2 ou mais cigarros por dia durante a gestação e foi uma variável estudada no segundo e quarto artigo.

3.2- Desenho do estudo

Os artigos apresentados a seguir tratam-se de estudos epidemiológicos tipo transversal ou de prevalência, por meio da comparação dos valores de leptina e adiponectina do cordão umbilical conforme peso e comprimento do recém-nascido, sexo,

idade gestacional e índice ponderal (primeiro e terceiro artigo) e pela avaliação do efeito do tabagismo materno nos níveis de leptina e adiponectina do cordão umbilical (segundo e quarto artigo).

Para a realização destes artigos realizou-se um estudo em 2 etapas:

1ª etapa: preenchimento de questionário com dados maternos, coleta do sangue do cordão umbilical, avaliação do recém-nascido.

2ª etapa: dosagens laboratoriais.

Na primeira fase do estudo foi preenchido pelo pesquisador um questionário materno, previamente testado, cuja meta foi a obtenção de dados clínicos sobre a gestação, tabagismo, presença de diabetes ou outras patologias, além de informações sobre moléstias cardiovasculares ou obesidade nos familiares.

A classificação social foi obtida no questionário segundo o Critério Abipeme - da Associação Brasileira de Institutos de Pesquisa de Mercado e da Associação Brasileira de Anunciantes - obtida de pesquisa amostral realizada no estado de São Paulo, e que é apropriada para análise da situação social, econômica e demográfica no Brasil. Esta classificação validada por JANNUZZI e BAENINGER (1996), considera a existência e o número na residência de: televisão, rádio, banheiro, empregada mensalista fixa, aspirador de pó, máquina de lavar roupa, automóvel e a escolaridade do chefe da casa. A família é enquadrada em um dos cinco estratos (A,B,C,D,E) conforme a somatória de pontos: A (89 ou mais), B (59 a 88), C (35 a 58), D (20 a 34), E (0 a 19).

A coleta do sangue do cordão umbilical foi realizada imediatamente após o nascimento. Os exames foram centrifugados e congelados a - 20°C, sendo depois transportados para o laboratório de Endocrinologia da Universidade Estadual de Campinas, onde foram analisados.

Ainda na primeira fase do estudo foram obtidos os dados referentes ao recém-nascido: peso e comprimento de nascimento, sexo, APGAR, idade gestacional e índice ponderal.

Os recém-nascidos foram pesados utilizando-se uma balança microeletrônica portátil e medidos por meio de um antropômetro afixado em superfície plana. Foram realizadas duas medidas e comparadas. A placenta também foi pesada.

O cálculo da idade gestacional e do índice ponderal foram realizados utilizando como padrão os gráficos citados no item anterior.

A segunda etapa do estudo compreendeu as dosagens laboratoriais. As amostras foram congeladas em Sorocaba e transportadas em recipiente adequado até o laboratório de Endocrinologia (Disciplina de Endocrinologia do Departamento de Clínica Médica) da Faculdade de Ciências Médicas - FCM - UNICAMP. Os exames dosados foram: leptina, adiponectina, estradiol e testosterona.

A leptina foi dosada por técnica de radioimunoensaio (Linco Research, USA), tendo como valores médios de referência no sangue do cordão umbilical (GOMEZ et al. 1999):

- para sexo masculino = 4,8 ng/mL (variando de 0,7-23,6 ng/mL).
- para sexo feminino = 7,2 ng/mL (variando de 0,9-28,1 ng/mL).

A adiponectina foi dosada por técnica de radioimunoensaio (Linco Research, USA), tendo como valores médios de referência no sangue do cordão umbilical (LINDSAY et al. 2003):

- para sexo masculino = 23.3 µg/mL ($\pm$ 1.1 µg/mL).
- para sexo feminino = 21.0 µg/mL ($\pm$ 1.1 µg/mL).

O estradiol foi dosado por meio do método enzimático colorimétrico, tendo como valores médios de referência no sangue do cordão umbilical (MATSUDA et al. 1997):

- para sexo masculino = 10,3 ng/mL (variando de 5,7-14,6 ng/mL).
- para sexo feminino = 11,8 ng/mL (variando de 6,2-18 ng/mL).

A testosterona foi dosada por meio do método enzimático colorimétrico, tendo como valores de referência no sangue do cordão umbilical (MATSUDA et al. 1997):

- para sexo masculino = 1,91 ng/mL (variando de 0,46-5,53 ng/mL).
- para sexo feminino = 1,61 ng/mL (variando de 0,39-4,55 ng/mL).

Para a análise dos dados dos artigos utilizou-se do programa estatístico SPSS. Foram calculadas as médias e os respectivos desvios erros padrões das médias e verificadas as diferenças pelos testes não-paramétricos. Os pormenores de cada análise estatística encontram-se descritos no corpo dos artigos a seguir.

Este estudo foi realizado de acordo com a revisão atual da Declaração de Helsinque e com a resolução brasileira 196, de 10 de outubro de 1996 (*Resolução nº 196. Cadernos de Ética em Pesquisa 1996*).

O protocolo do estudo foi aprovado antes de seu início pelo Comitê de Ética local.

O investigador obteve o consentimento livre e esclarecido de cada gestante, explicando a natureza e os objetivos do estudo. Este consentimento livre e esclarecido foi obtido antes da realização de qualquer atividade relacionada ao estudo. **Anexo 1**

O fornecimento do consentimento foi também documentado pelo pesquisador na Ficha Clínica.

4- APRESENTAÇÃO DOS ARTIGOS

4.1- APRESENTAÇÃO DO PRIMEIRO ARTIGO

Leptina como marcadora do dimorfismo sexual em recém-nascidos.

Jornal de Pediatria, 80(4): 305-308, 2004.



Leptina como marcadora do dimorfismo sexual em recém-nascidos

Leptin as a marker of sexual dimorphism in newborn infants

Inês M. C. G. Pardo¹, Bruno Geloneze², Marcos A. Tambascia²,
José L. Pereira³, Antonio A. Barros Filho⁴

Resumo

Objetivo: Avaliar os níveis de leptina do cordão umbilical em recém-nascidos adequados para a idade gestacional conforme sexo, peso, comprimento e índice ponderal de nascimento.

Método: Estudo tipo transversal, envolvendo 132 recém-nascidos adequados para idade gestacional (68 do sexo feminino, 64 do sexo masculino), com idade gestacional de 35-42 semanas. Os dados foram obtidos mediante entrevista com as mães na maternidade, pelo estudo antropométrico dos recém-nascidos e pela dosagem de leptina, estradiol e testosterona no cordão umbilical por meio da coleta imediata após o parto.

Resultados: Os recém-nascidos do sexo feminino apresentaram níveis de leptina significativamente maiores que os do sexo masculino ($8,34 \pm 0,65$ ng/ml versus $6,06 \pm 0,71$ ng/ml; $p = 0,000$). Os níveis de estradiol e testosterona não variaram conforme o sexo. A leptina se correlacionou positivamente com idade gestacional ($r = 0,394$, $p < 0,01$), peso ($r = 0,466$, $p < 0,01$), comprimento ($r = 0,335$, $p < 0,01$) e índice ponderal ($r = 0,326$, $p < 0,01$) dos recém-nascidos.

Conclusões: A leptina do cordão umbilical se correlaciona positivamente com idade gestacional, peso, comprimento e índice ponderal do recém-nascido, sugerindo sua participação no processo de crescimento neonatal. Além disso, os recém-nascidos do sexo feminino têm níveis séricos de leptina maiores que os do sexo masculino, sugerindo que o dimorfismo sexual relacionado à composição corporal já possa existir em recém-nascidos.

J Pediatr (Rio J). 2004;80(4):305-8: Leptina, recém-nascido, peso de nascimento, crescimento.

Abstract

Objective: To determine cord blood leptin levels in newborns appropriate for gestational age, according to gender, birth weight, birth height and ponderal index.

Methods: A cross-sectional study was carried out with 132 term newborns appropriate for gestational age (68 females, 64 males), gestational age between 35-42 weeks. Data were collected through interviews with the mothers at the maternity, anthropometrical study of the newborns, and cord blood estradiol, testosterone and leptin assays obtained immediately after birth.

Results: The levels of leptin were significantly higher in females than in males (8.34 ± 0.65 ng/ml versus 6.06 ± 0.71 ng/ml; $p = 0.000$). The concentrations of estradiol and testosterone did not differ between males and females. Leptin levels were positively correlated with gestational age ($r = 0.394$, $p < 0.01$), birth weight ($r = 0.466$, $p < 0.01$), birth length ($r = 0.335$, $p < 0.01$) and ponderal index ($r = 0.326$, $p < 0.01$).

Conclusions: Leptin concentration in the umbilical cord is positively correlated with gestational age, birth weight, birth height, and ponderal index, suggesting its participation in the neonatal growth process. In addition, a gender difference with higher levels of leptin in females neonates was observed, suggesting that the sexual dimorphism in relation to body composition already exists in newborns.

J Pediatr (Rio J). 2004;80(4):305-8: Leptin, newborn, birth weight, growth.

Introdução

A leptina (palavra grega *leptos*, que significa "magro") é uma proteína de 16 kDa sintetizada pelos adipócitos que foi recentemente descoberta por intermédio de estudos genéticos realizados por Zhang et al.¹. Desde então, uma série de estudos vêm sendo desenvolvidos no sentido de esclarecer seu papel na fisiologia humana.

Estudos em ratos revelaram que a leptina apresenta papel importante na função neuroendócrina. A mutação do gene *ob/ob*, que codifica a leptina em ratas, provoca infertilidade, ausência de desenvolvimento puberal, obesidade e resistência à insulina¹.

Nos seres humanos, a leptina tem sido correlacionada com a massa gorda corpórea e o balanço energético, além de apresentar variações conforme o sexo e o desenvolvimento puberal^{2,3}.

Em 1997, descobriu-se que a leptina é produzida também pela placenta e pelo feto^{4,5}. Isso desencadeou a realização de estudos que investigam a relação da leptina com o crescimento fetal e também como indicadora dos depósitos de energia do recém-nascido através de sua dosagem no sangue do cordão umbilical. No Brasil, há carência de estudos que avaliem as concentrações de leptina no cordão umbilical, bem como sua variabilidade conforme o sexo dos recém-nascidos.

1. Doutoranda do Curso de Pós-Graduação em Pediatria, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP.

2. Doutor, Professor da Disciplina de Endocrinologia e Metabolismo, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP, Campinas, SP.

3. Chefe da Disciplina de Neonatologia, Departamento de Pediatria, Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUCSP), São Paulo, SP.

4. Doutor, Professor, Departamento de Pediatria, Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP, Campinas, SP.

Fonte financiadora: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP.

Artigo submetido em 17.12.03, aceito em 26.04.04.

O objetivo deste estudo é avaliar os níveis de leptina do cordão umbilical em recém-nascidos adequados para a idade gestacional conforme sexo, peso, comprimento e índice ponderal de nascimento.

Material e métodos

Foi realizado um estudo epidemiológico tipo transversal por meio da avaliação de 132 recém-nascidos adequados para a idade gestacional (68 do sexo feminino, 64 do sexo masculino), com idade gestacional de 35-42 semanas, nascidos no centro obstétrico do Hospital Regional de Sorocaba durante o período de janeiro de 2001 a fevereiro de 2002. Foram selecionados para o estudo apenas os nascidos durante o período diurno (entre 7 e 16 horas), pois há referências na literatura sobre a variação nos níveis de leptina durante o período noturno⁶.

O cálculo do tamanho amostral foi determinado com base na ocorrência prévia relatada por Koistinen et al. em 1997⁴, sendo 96 o número mínimo de amostras necessárias para este estudo. Os valores de α e β admitidos para este cálculo foram de 0,05 e 0,10, respectivamente.

Os recém-nascidos foram selecionados segundo os seguintes critérios: idade gestacional entre 35-42 semanas, adequados para a idade gestacional, recém-nascidos prematuros cujas gestantes não fizeram uso de corticoterapia, Apgar de primeiro minuto igual ou superior a 7, ausência de malformações congênitas, parto não-gemelar, ausência de enfermidades maternas como hipertensão arterial, diabetes melito, doenças da tireóide ou hipercolesterolemia.

Foram excluídos todos os recém-nascidos de mães tabagistas ou etilistas durante a gravidez.

O estudo foi realizado em duas etapas:

1ª etapa: preenchimento de questionário com dados maternos, coleta do sangue do cordão umbilical, avaliação do recém-nascido.

2ª etapa: dosagens laboratoriais.

Na primeira fase do estudo, foi preenchido pelo pesquisador um questionário materno, previamente testado, cuja meta era a obtenção de dados clínicos sobre a gestação. Ainda na primeira fase do estudo, foram obtidos os dados referentes ao recém-nascido: peso e comprimento ao nascer, índice ponderal, sexo, Apgar, idade gestacional e peso da placenta. Os recém-nascidos foram pesados utilizando-se uma balança microeletrônica portátil e medidos através de um antropômetro apropriado. Duas medidas foram realizadas e comparadas; quando essas medidas diferiram, utilizou-se a média entre as mesmas. O índice ponderal corresponde ao peso do recém-nascido em gramas, dividido pelo comprimento em centímetros ao cubo, multiplicado por 100. A idade gestacional foi calculada pela data da última menstruação e confirmada pela ultra-sonografia.

Os recém-nascidos foram classificados quanto à adequação do peso à idade gestacional de acordo com a curva de Alexander et al.⁷; após, selecionou-se apenas os recém-nascidos adequados para a idade gestacional.

A segunda etapa do estudo compreendeu as dosagens laboratoriais. A leptina foi obtida do sangue venoso do cordão umbilical, coletado imediatamente após o nascimento, não tendo ocorrido contaminação com o sangue materno, sendo centrifugado e congelado até a análise simultânea de todo o material. Todos os casos em que ocorreu ruptura da placenta foram excluídos do estudo. A leptina foi medida por radioimunoensaio (Linco Research, St. Charles, Missouri, EUA). A concentração mínima detectável de leptina foi de 0,5 ng/ml, com coeficientes de variação intra- e interensaios inferiores a 3 e 6%, respectivamente. O estradiol e a testosterona foram dosados por técnica de radioimunoensaio (Diagnostic Systems Laboratories, Texas, USA). A concentração mínima detectável de estradiol foi de 0,01 ng/ml, e a de testosterona foi de 0,08 ng/ml. Os coeficientes de variação intra- e interensaios para estradiol e testosterona foram inferiores a 5%.

Este estudo foi realizado de acordo com a revisão atual da Declaração de Helsinque e com a Resolução Brasileira 196, de 10 de outubro de 1996, sendo aprovado antes de seu início pelo Comitê de Ética local.

Para a análise dos dados, foram calculadas as médias e os respectivos erros padrão das médias ou mediana e variação, e verificadas as diferenças pelo teste não-paramétrico Mann-Whitney e teste de qui-quadrado para variáveis categóricas. Foi utilizado o coeficiente de Spearman para o cálculo das correlações e adotado $p < 0,05$ como valor significativo. O programa SPSS versão 7.5 foi utilizado para todos os cálculos estatísticos.

Resultados

As características clínicas dos recém-nascidos estão resumidas na Tabela 1. A idade gestacional média dos recém-nascidos foi de 38,58 semanas, com peso médio de 3.053 g, comprimento médio de 47,78 cm, índice ponderal médio de 2,79 e peso da placenta com média de 539,96 g. Existiam 10 prematuros no grupo do sexo feminino e 12 prematuros no grupo masculino ($p = 0,728$). Não houve diferenças significativas quanto ao sexo desses dados.

Os escores de Apgar de 1 e 5 minutos não diferiram estatisticamente entre os sexos. Tanto no grupo feminino quanto no masculino a mediana do Apgar de 1 minuto foi 8 (variação 7-9) e de 5 minutos foi 9 (variação 9-10).

Recém-nascidos do sexo feminino possuem níveis de leptina significativamente maiores ($p = 0,000$) que os do sexo masculino ($8,34 \pm 0,65$ ng/ml versus $6,06 \pm 0,71$ ng/ml). As concentrações séricas dos hormônios sexuais, estradiol e testosterona, não apresentaram variações entre recém-nascidos do sexo masculino e feminino (Tabela 1).

A leptina do cordão umbilical se correlacionou com parâmetros antropométricos dos recém-nascidos, conforme descrito na Tabela 2. A idade gestacional e o peso de nascimento apresentaram moderado grau de associação com a leptina sérica ($p < 0,01$). A leptina do cordão umbilical também se correlacionou em menor grau com o comprimento e com o índice ponderal do recém-nascido ($p < 0,05$).

Tabela 1 - Características dos recém-nascidos e dosagens de estradiol, testosterona e leptina conforme o sexo

Sexo	Masculino (n = 64)	Feminino (n = 68)	Total (n = 132)
Idade gestacional (semanas)	38,51±0,23	38,64±0,22	38,58±0,16
Peso de nascimento (g)	3.074±50,45	3.033±51,77	3.053±36,09
Comprimento (cm)	47,95±0,24	47,61±0,30	47,78±0,19
Índice ponderal	2,78±0,03	2,80±0,03	2,79±0,02
Peso da placenta (g)	546,25±13,35	534,04±12,51	539,96±9,12
Estradiol (ng/ml)	9,17±0,50	9,53±0,45	9,48±0,29
Testosterona (ng/ml)	3,45±0,24	4,23±0,38	4,12±0,22
Leptina (ng/ml)	6,06±0,71	8,34±0,65*	7,23±0,49

Dados expressos em média e erro padrão da média.

* p = 0,000 versus sexo masculino.

Tabela 2 - Correlações entre leptina do cordão umbilical e parâmetros antropométricos dos recém-nascidos

Recém-nascidos	Total (n = 132)
Leptina versus	
idade gestacional do recém-nascido	0,394*
Leptina versus	
peso de nascimento do recém-nascido	0,466*
Leptina versus	
comprimento ao nascer do recém-nascido	0,335*
Leptina versus	
índice ponderal do recém-nascido	0,326*
Leptina versus peso da placenta	0,103

Coefficiente de correlação de Spearman *p < 0,01.

Discussão

Este estudo demonstrou que as concentrações de leptina do cordão umbilical se correlacionam com parâmetros antropométricos neonatais e que os recém-nascidos do sexo feminino apresentam níveis superiores de leptina quando comparados aos do sexo masculino. Uma vez que este estudo apresentou um número de recém-nascidos similar conforme o sexo e não encontrou diferenças quanto ao índice ponderal, peso, comprimento e hormônios sexuais entre neonatos do sexo masculino e feminino, sugere-se, pela primeira vez, que este dimorfismo quanto à composição corporal esteja associado ao maior depósito de gordura subcutânea existente no sexo feminino.

O crescimento fetal é caracterizado por uma fase inicial de organização e diferenciação tecidual, associada a uma intensa proliferação celular. Fatores genéticos, suprimento transplacentário de oxigênio e de substratos, além das ações endócrina e parácrina de hormônios produzidos pelo feto, placenta ou mãe, são os principais moduladores do crescimento fetal⁸.

O controle hormonal do crescimento fetal é exercido por hormônios de origem placentária ou de origem fetal. A

regulação pode ser indireta, por modular o crescimento e fluxo sanguíneo placentário, ou direta, pela transferência de hormônio placentário ao feto. Entre esses hormônios estão: GH fetal, insulina, somatomedina, hormônios tireoideanos e esteróides sexuais⁹. Estudos recentes sugerem que a leptina também esteja envolvida nesse processo¹⁰⁻¹¹.

A leptina pode ser dosada tanto no fluido amniótico quanto no cordão umbilical a partir de 25 semanas de gestação⁵. Enquanto a leptina proveniente do líquido amniótico reflete o ambiente materno, a leptina do cordão é derivada tanto da placenta como do tecido fetal. Assim, a maioria dos estudos publicados até o momento são unânimes ao afirmar que a leptina dosada no sangue materno se correlaciona apenas com a adiposidade materna¹²⁻¹⁴.

A presença de leptina no sangue do cordão umbilical humano tem sido demonstrada em diversos estudos. Este estudo demonstrou uma correlação positiva entre leptina do cordão umbilical e idade gestacional, peso, comprimento e índice ponderal dos recém-nascidos. Esse achado é semelhante ao encontrado em estudos prévios, sugerindo que a produção de leptina no cordão esteja relacionada com o desenvolvimento do tecido adiposo fetal. Koistinen et al.⁴ encontraram associação positiva entre crescimento fetal e concentração de leptina no cordão umbilical. Matsuda et al.¹⁵ realizaram um estudo com 82 recém-nascidos, com idade gestacional entre 36-42 semanas e peso de nascimento entre 2.305-4.128 g, e encontraram associação positiva entre peso de nascimento e leptina no cordão umbilical. Helland¹⁶ também descreveu essa mesma associação em seu estudo publicado em 1997.

Há controvérsias na literatura mundial quanto a uma possível correlação entre leptina do cordão umbilical e peso da placenta, existindo estudos que encontraram tal associação¹⁷⁻¹⁸, enquanto outros não encontraram¹⁹⁻²⁰. Este estudo não encontrou uma correlação entre leptina e peso da placenta.

Recentemente, novos estudos têm sido publicados, confirmando a importância da leptina no crescimento fetal. Estudo publicado em 2000 verificou que a leptina do cordão umbilical se correlaciona negativamente com ICTP

(*carboxy-terminal telopeptide type I collagen*), que é um marcador de reabsorção óssea, sugerindo que a leptina provavelmente diminui a reabsorção óssea, com consequente aumento da massa óssea²¹. Christou et al.²² observaram que o peso ao nascer apresenta uma associação independente dos níveis de IGF-I com as concentrações de leptina do cordão, sugerindo que a leptina esteja envolvida em mecanismos ainda desconhecidos de regulação do crescimento fetal.

Embora a diferença nas concentrações de leptina em adultos segundo o sexo seja bem documentada, em crianças e recém-nascidos existem poucos estudos²³⁻²⁴. Este estudo demonstrou que os recém-nascidos do sexo feminino apresentaram níveis séricos de leptina maiores que os do sexo masculino. Observamos que esta diferença existe mesmo quando comparamos recém-nascidos do sexo masculino e feminino com as mesmas características quanto ao peso, comprimento e índice ponderal. Resultado semelhante foi encontrado num estudo de coorte realizado com 197 recém-nascidos na Inglaterra, publicado em 1999²⁵, que demonstrou que os recém-nascidos do sexo feminino têm níveis maiores de leptina que os do sexo masculino, independentemente do tamanho de nascimento. Isso sugere que provavelmente o dimorfismo sexual relacionado à composição corporal já exista em recém-nascidos.

Os mecanismos envolvidos nas variações dos níveis de leptina conforme o sexo dos neonatos ainda são desconhecidos. Verificou-se neste estudo que as concentrações dos hormônios sexuais no cordão umbilical são similares quanto ao sexo. Deste modo, os hormônios sexuais no cordão umbilical não devem interferir na variabilidade da leptina quanto ao sexo. Este estudo sugere que provavelmente as diferenças quanto aos depósitos de gordura subcutânea conforme o sexo possam explicar essa diferença entre leptina dosada em recém-nascidos do sexo masculino e feminino. Estudo prévio²⁶ relata que o índice ponderal não é um bom indicador dos depósitos gordurosos do recém-nascido, sendo que a medida das pregas cutâneas do sexo feminino é superior comparada à do sexo masculino. Estudos futuros utilizando métodos de bioimpedância poderão esclarecer as razões dessas diferenças e suas associações com o crescimento do recém-nascido.

Em conclusão, nosso estudo encontrou uma correlação positiva da leptina do cordão umbilical com a idade gestacional, peso, comprimento e índice ponderal do recém-nascido, sugerindo sua associação com o processo de crescimento neonatal. Concluímos também que os recém-nascidos do sexo feminino têm níveis séricos de leptina maiores que os do sexo masculino, sugerindo que o dimorfismo sexual relacionado à composição corporal já possa existir em neonatos.

Agradecimentos

Agradecemos à biomédica Sandra Grandin Pereira, do Departamento de Endocrinologia da UNICAMP, pela sua valiosa colaboração na realização da dosagem da leptina. Agradecemos também à FAPESP, pelo financiamento do projeto.

Referências

- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman J. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372:425-32.
- Seeley RJ, Schwartz MW. Neuroendocrine regulation of food intake. *Acta Paediatr Suppl*. 1999;88(428):58-61.
- Cunningham MJ, Clifton DK, Steiner RA. Leptin's actions on the reproductive axis: perspectives and mechanisms. *Biol Reprod*. 1999;60:216-22.
- Koistinen HA, Koivisto VA, Kontula K, Andersson S, Teramo KA, et al. Leptin concentration in cord blood correlates with intrauterine growth. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:3328-30.
- Schubring C, Kiess W, Englaro P, Rascher W, Dotsch J, Blum W, et al. Levels of leptin in maternal serum, amniotic fluid, and arterial and venous cord blood: relation to neonatal and placental weight. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:1480-3.
- Tarquini B, Tarquini R, Perfetto F, Cornelissen G, Halberg F. Genetic and environmental influences on human cord blood leptin concentration. *Pediatrics*. 1999;103:998-1006.
- Alexander GR, Himes JH, Kaufman RB, Mor J, Kogan M. A United States National Reference for fetal growth. *Obstet Gynecol*. 1996;87:163-8.
- Monte O, Longui CA, Calilari LEP. *Endocrinologia Pediátrica*. São Paulo: Editora Atheneu; 1998.
- van den Brande JL. Somatomedins on the move. *Horm Res*. 1990;33:58-68.
- Gómez L, Carrascosa A, Yeste D, Potau N, Riqué S, Almar J, et al. Leptin values in placental cord blood of human newborns with normal intrauterine growth after 30-42 weeks of gestation. *Horm Res*. 1999;51:10-14.
- Vatten LJ, Nilsen ST, Odegård RA, Romundstad PR, Austgulen R. Insulin-like growth factor I and leptin in umbilical cord plasma and infant birth size at term. *Pediatrics*. 2002;109:1131-5.
- Hassink SG, Lancey E, Sheslow DV, Considine RV, Dostal K, Smith-Kirwin SM, et al. Placental leptin: important new growth factor in intrauterine and neonatal development? *Pediatrics*. 1997;100:E1.
- Tamura T, Goldenberg RL, Johnston KE, Cliver SP. Serum leptin concentrations during pregnancy and their relationship to fetal growth. *Obstet Gynecol*. 1998;91:389-95.
- Schubring C, Englaro P, Siebler T, Blum WF, Demirakca T, Kiess W, et al. Longitudinal analysis of maternal serum leptin levels during pregnancy, at birth and up to six weeks after birth: relation to body mass index, skinfolds, sex steroids and umbilical blood leptin levels. *Horm Res*. 1998;50:276-83.
- Matsuda J, Yokota I, Iida M, Murakami T, Naito E, Ito M, et al. Serum leptin concentration in cord blood: relationship to birth weight and gender. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:1642-4.
- Helland IB, Reseland JE, Saugstad OD, Drevon CA. Leptin levels in pregnant women and newborn infants: gender differences and reduction during the neonatal period. *Pediatrics*. 1998;101:E12.
- Geary M, Pringle PJ, Persaud M, Wilshin J, Hindmarsh PC, Rodeck CH, et al. Leptin concentrations in maternal serum and cord blood: relationship to maternal anthropometry and fetal growth. *Br J Obstet Gynaecol*. 1999;106:1054-60.
- Schulz S, Häckel C, Weise W. Hormonal regulation of neonatal weight: placental leptin and leptin receptors. *BJOG*. 2000;107: 1486-91.
- Lepercq J, Lahlou N, Timsit J, Girard J, Mouzon SH. Macrosomia revisited: ponderal index and leptin delineate subtypes of fetal overgrowth. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;181:621-5.
- Papadopoulou FG, Mamopoulos AM, Triantos A, Constantinidis TC, Papadimas J, Assimakopoulos EA, et al. Leptin levels in maternal and cord serum: relationship with fetal development and placental weight. *J Matern Fetal Med*. 2000;9:298-302.
- Oguchi O, Sooranna S, Nicolaidis KH, Johnson MR. The relationship between leptin concentration and bone metabolism in the human fetus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:1997-9.
- Christou H, Connors JM, Ziotopoulou M, Hatidakis V, Papathanassoglou E, Ringer SA, et al. Cord blood leptin and insulin-like growth factor levels are independent predictors of fetal growth. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:935-8.
- Su PH, Wang SL, Chen JY, Lai CP, Jian SH. Serum leptin levels in preterm, healthy and sick-term newborns. *Acta Paediatr Taiwan*. 2002;43:249-54.
- Yang MJ, Liu RS, Hung JH. Leptin concentrations in the umbilical vein and artery. Relationship to maternal and neonatal anthropometry. *J Reprod Med*. 2002;47:645-50.
- Ding KK, Ahmed ML, Sherriff A, Woods KA, Watts A, Golding J, et al. Cord blood leptin is associated with size at birth and predicts infancy weight gain in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:1145-8.
- Copper RL, Goldenberg RL, Cliver SP, Dubard MB, Hoffman HJ, Davis RO. Anthropometric assessment of body size differences of full-term male and female infants. *Obstet Gynecol*. 1993;81:161-4.

Correspondência:

Inês M. C. G. Pardo
Rua Souza Pereira, 138 - CEP 18010-320 - Sorocaba, SP
Fone: (15) 232.4699 - Fax: (15) 232.7050
E-mail: doctorpardo@hotmail.com; loli@terra.com.br

4.2- APRESENTAÇÃO DO SEGUNDO ARTIGO:

Does maternal smoking influence leptin levels in term, appropriate-for-gestational age newborns?

The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine, 15:408-410, 2004.

Does maternal smoking influence leptin levels in term, appropriate-for-gestational-age newborns?

I. M. C. G. Pardo¹, B. Geloneze², M. A. Tambascia² and A. A. Barros-Filho¹

¹Department of Pediatrics, Faculty of Medical Sciences, University of Campinas – UNICAMP, São Paulo, Brazil

²Department of Internal Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Campinas – UNICAMP, São Paulo, Brazil

Objectives: Leptin, a hormone produced in adipose tissue and the placenta, is correlated with neonatal growth. The aim of this study was to investigate the effect of maternal smoking during pregnancy on cord blood leptin concentrations in term, appropriate-for-gestational-age infants.

Methods: Two groups of term, appropriate-for-gestational-age newborns were selected: 19 infants of smoking mothers and 91 infants of non-smoking mothers. Neonatal anthropometric measurements were taken and leptin levels were measured by radioimmunoassay.

Results: Leptin concentrations were similar ($p = 0.915$) between the groups. Leptin levels correlated only with ponderal index ($p < 0.01$) and gestational age of the newborns ($p < 0.05$).

Conclusions: This study indicates that maternal smoking during pregnancy does not affect cord blood leptin levels in term, appropriate-for-gestational-age infants.

Key words: SMOKING; NEWBORNS; PREGNANCY; LEPTIN; APPROPRIATE-FOR-GESTATIONAL-AGE

INTRODUCTION

Leptin, the protein product of the obese gene, is produced by adipocytes and placental tissue and seems to function as a link between adiposity, satiety and energy regulation¹. Recent reports correlate leptin with neonatal growth^{2,3}, and we previously reported that umbilical cord blood leptin levels were correlated to neonatal growth parameters⁴. However, contradictory results have been related regarding the effect of cigarette smoking on plasma leptin concentration^{5,6}. Thus the aim of the present work was to investigate the influence of maternal cigarette smoking during pregnancy on cord blood leptin concentrations in term, appropriate-for-gestational-age newborns.

METHODS

We investigated the effect of maternal smoking during pregnancy on cord blood leptin concentrations in two groups of term, appropriate-for-gestational-age infants: 19 infants of smoking mothers and 91 infants of non-smoking mothers. Maternal smoking was defined as smoking at least 2 cigarettes per day during pregnancy. The neonates were

recruited randomly on the basis that they fulfilled the entry criteria of the study. The mothers of study infants did not have diabetes, pre-eclampsia or other diseases. Subjects with complications during pregnancy or labor were excluded from the study. The mothers who reported alcohol intake were excluded.

Weight and height were measured for all of the pregnant mothers. Neonatal anthropometric measurements (length and weight) were taken, and ponderal index (body weight (g)/[body length (cm)]³ × 100) was calculated. Cord blood samples were taken immediately after birth; they were centrifuged and the plasma was removed before storage. Leptin concentrations were measured by radioimmunoassay (Linco Research, St Charles, MI, USA). Intra- and inter-assay coefficients of variation were < 4% and < 8%, respectively. All mothers gave informed consent and the local ethics committee approved this study.

Data are expressed as mean (standard error) and a p value of < 0.05 was considered a determinant of statistical significance. The non-parametric Mann-Whitney U test was used to analyze differences in continuous variables between the groups. Relationships among variables were

Correspondence: Dr I. M. C. G. Pardo, Rua Souza Pereira 138, Centro, Sorocaba, São Paulo, 18010-320 Brazil

evaluated by Spearman rank correlation. Analyses were done with SPSS software, version 8.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTS

There were no significant differences in any maternal variable (body mass index, age, parity and pregnancy duration) between smoking and non-smoking mothers. The data were therefore not stratified for these variables.

The main characteristics of the newborns are summarized in Table 1. There was no difference in leptin concentrations between the smoking and non-smoking groups ($p = 0.915$).

A gender difference was found in plasma leptin concentration, with higher concentrations for female newborns than for male newborns (8.34 ± 0.65 ng/ml vs. 6.06 ± 0.71 ng/ml, $p = 0.000$). However, the proportion of females/males in the non-smoking group was similar to that in the smoking group.

Leptin concentration in umbilical cord plasma correlated only with ponderal index ($r = 0.287$, $p < 0.01$) and gestational age of the newborns ($r = 0.171$, $p < 0.05$). There was no correlation between umbilical cord plasma concentration of leptin and placental weight.

DISCUSSION

There are very few reports about cord blood leptin metabolism and maternal smoking during pregnancy, and the results are controversial. The reason why conclusions by various researchers have not agreed may be due to the small size of the study populations and inappropriate adjustment by body mass of the subjects for data analyses. In our study we compared groups of newborns with similar growth parameters to analyze the relationship between

maternal smoking and leptin concentration in these neonates.

We observed that newborns whose mothers smoked during pregnancy did not differ in nutritional status from the newborns of non-smoking mothers. This is important for the analysis, because if these factors were different, they could alter leptin concentrations and so affect our results. Thus our findings reveal that leptin concentrations were not affected by maternal smoking during pregnancy under conditions of normal neonatal growth. In fact, maternal smoking was not correlated with leptin concentrations. However, the number of cigarettes smoked during pregnancy was moderate in this study (mean 10.63); therefore we cannot exclude the possibility that a higher number of cigarettes could result in a statistical difference between the groups. A dose-response relationship has been described between the number of cigarettes smoked per day during pregnancy and birth weight⁷. A recent report demonstrated that elevated nicotine exposure in pregnant rhesus monkeys resulted in lower birth weight and reduced leptin concentrations in the neonatal offspring⁸. Further studies are required to substantiate this proposition.

Another finding of this study is that leptin concentrations were higher in female infants than in male infants. Previous reports^{4,9} have also described these sex differences but their biological significance remains unknown. Saad and colleagues¹⁰ suggested that these gender differences in leptin concentrations could reflect a sex-based difference in the regulation of leptin production by fetal adipose tissue. Our previous report⁴ found no correlation between serum leptin values and either estradiol or testosterone concentrations. In this study there were no differences in birth weight or ponderal index between males and females. Together, these results suggest that this gender difference in newborns is unlikely to be due to either the body fat content or the

Table 1 Characteristics of the study population

	Term newborns		<i>p</i> Value*
	Smoking mothers (n = 19)	Non-smoking mothers (n = 91)	
Gestational age (weeks)	39.0 (0.25)	39.22 (0.14)	0.563
Birth weight (g)	3107 (118.15)	3138 (56.92)	0.613
Birth length (cm)	48.10 (0.34)	48.47 (0.15)	0.518
Ponderal index	2.79 (0.05)	2.81 (0.02)	0.856
Males/females	9/10	41/50	
Placental weight (g)	545.26 (19.32)	555.44 (10.92)	0.959
Cigarettes/day	10.63 (1.60)	0	
Leptin (ng/ml)	7.87 (1.41)	7.89 (0.59)	0.915

Data are expressed as mean (standard error) or n

*Mann-Whitney *U* test

reproductive hormone status. We speculate that leptin sex differences could depend on genetic factors.

Leptin levels correlated only with ponderal index ($r = 0.287$, $p < 0.01$) and gestational age of the newborns ($r = 0.171$, $p < 0.05$), suggesting that leptin levels in term, appropriate-for-gestational-age infants are linked with neonatal growth parameters but maternal smoking does not influence cord blood leptin concentrations. The correlation between leptin concentrations and the gestational age of neonates found in our study is in accordance with earlier reports^{11,12}.

In conclusion, our study indicates that maternal smoking during pregnancy does not affect cord blood leptin levels in term, appropriate-for-gestational-age infants. Leptin levels were correlated only with ponderal index and gestational age of the newborns.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Sandra Grandin Pereira for leptin assays. This work was supported by a grant from the Foundation of Support to the Research of São Paulo State (FAPESP), Brazil.

REFERENCES

1. Poleymounter UA, Cullin RJ, Baker MB, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995;269:540-3
2. Vatten LJ, Nilsen ST, Odegård RA, et al. Insulin-like growth factor I and leptin in umbilical cord plasma and infant birth size at term. *Pediatrics* 2002;109:1131-5
3. Christou H, Connors JM, Ziotopoulou M, et al. Cord blood leptin and insulin-like growth factor levels are independent predictors of fetal growth. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:935-8
4. Pardo IMCG, Geloneze B, Tambascia MA, et al. Leptina como marcadora do dimorfismo sexual intra-útero. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2002;46:S501
5. Mantzoros CS, Varvarigou A, Kaklamani VG, et al. Effect of birth weight and maternal smoking on cord blood leptin concentrations of full-term and preterm newborns. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2856-61
6. Helland IB, Reseland JE, Saugstad OD, et al. Smoking related to plasma leptin concentration in pregnant women and their newborn infants. *Acta Paediatr* 2001;90:282-7
7. Adriaanse HP, Knottnerus JA, Delgado LR, et al. Smoking in Dutch pregnant women and birth weight. *Patient Educ Couns* 1996;28:25-30
8. Grove KL, Sekhon HS, Brogan RS, et al. Chronic maternal nicotine exposure alters neuronal systems in the arcuate nucleus that regulate feeding behavior in the newborn rhesus macaque. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5420-6
9. Gómez L, Carrascosa A, Yeste D, et al. Leptin values in placental cord blood of human newborns with normal intrauterine growth after 30-42 weeks of gestation. *Horm Res* 1999;51:10-14
10. Saad MF, Damani S, Gingerich RL. Sexual dimorphism in plasma leptin concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:579-84
11. Jaquet D, Leger J, Levy-Marchal C, et al. Ontogeny of leptin in human fetuses and newborns: effect of intrauterine growth retardation on serum leptin concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1243-6
12. Cetin I, Morpurgo PS, Radaelli T, et al. Fetal plasma leptin concentrations: relationship with different intrauterine growth patterns from 19 weeks to term. *Pediatr Res* 2000;48:646-51

4.3- APRESENTAÇÃO DO TERCEIRO ARTIGO:

Hyperadiponectinemia in newborns: relationship with leptin levels and birth weight.

Obesity Research, 12(3): 521-524, 2004.

Hyperadiponectinemia in Newborns: Relationship with Leptin Levels and Birth Weight

Inês M.C.G. Pardo,* Bruno Geloneze,† Marcos A. Tambascia,† and Antonio A. Barros-Filho*

Abstract

PARDO, INÊS M.C.G., BRUNO GELONEZE, MARCOS A. TAMBASCIA, AND ANTONIO A. BARROS-FILHO. Hyperadiponectinemia in newborns: relationship with leptin levels and birth weight. *Obes Res.* 2004;12:521–524.

Objective: Adiponectin is the only adipose-specific hormone that, despite its exclusive production by adipose tissue, is reduced in obesity and is inversely correlated with leptin levels in adults. The aim of this study was to evaluate the adiponectin concentration in umbilical cord blood at different gestational ages and to investigate its possible associations with leptin levels and birth weight.

Research Methods and Procedures: Umbilical cord blood was obtained from 132 newborns (male = 65, female = 67, gestational age: 35 to 42 weeks). The anthropometric variables of the newborns studied were birth weight, birth length, body weight/body length, and ponderal index. Adiponectin, insulin, and leptin levels were measured by radioimmunoassay methods.

Results: Adiponectin levels in males were not different from those in females (24.10 ± 0.81 vs. 25.62 ± 0.84 $\mu\text{g/mL}$, $p = 0.280$). Adiponectin concentrations were positively correlated with birth weight ($p < 0.05$), birth length ($p < 0.05$), body weight/body length ($p < 0.05$), gestational age ($p < 0.01$), and leptin levels ($p < 0.01$).

Discussion: These findings indicate that adiponectin is present in umbilical cord blood after 35 to 42 weeks of gestation, with higher levels than those usually found in adults, no gender differences, and a positive correlation with

birth weight and leptin. These results suggest that not only could neonatal hyperadiponectinemia be associated with the increase of adiponectin production by fetal adipose tissue but also with a possible reduction in an unknown mechanism related to the suppression of adiponectin observed in adults.

Key words: adiponectin, leptin, cord blood, newborns, birth weight

Introduction

Adiponectin, also called Acrp (adipocyte collagen-like related protein), is produced from only adipose tissue in humans (1) and has anti-inflammatory and antiatherogenic properties (2). This novel adipocytokine has been found to have positive associations with insulin sensitivity (2) in adults, and paradoxically, adiponectin is inversely correlated with other hormones produced by adipocytes, including leptin (3). The mechanism responsible for suppressed adiponectin production is still unknown. Plasma adiponectin concentrations have been shown to be decreased in male compared with female adults (2) and in patients with obesity (4), type 2 diabetes (5), and cardiovascular disease (6). Recent studies have demonstrated a strong correlation between leptin in cord blood and fetal body weight gain (7). Otherwise, there has been only one report that measured adiponectin in cord blood in diabetic mothers compared with a control group, and unexpectedly, this study found no correlation between adiponectin and birth weight or leptin levels (8). Thus, the purpose of this study was to evaluate the adiponectin concentration in umbilical cord blood at different gestational ages and to investigate its possible associations with leptin levels and birth weight.

Research Methods and Procedures

The study population consisted of 132 neonates (65 males, 67 females; gestational age, 35 to 42 weeks), whose

Received for review July 31, 2003.

Accepted in final form January 13, 2004.

The costs of publication of this article were defrayed, in part, by the payment of page charges. This article must, therefore, be hereby marked "advertisement" in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

*Department of Pediatrics and †Department of Endocrinology and Metabolism, University of Campinas, São Paulo, Brazil.

Address correspondence to Inês Maria Crespo Gutierrez Pardo, Rua Souza Pereira, 138 Centro, Sorocaba SP 13010-320, Brazil.

E-mail: doctm.pardo@hotmail.com

Copyright © 2004 NAASO

Table 1. Clinical characteristics of the newborns and insulin, leptin, and adiponectin concentrations in cord blood

	Males (<i>n</i> = 65)	Females (<i>n</i> = 67)	All newborns (<i>n</i> = 132)
Gestational age (weeks)	38.64 ± 0.22	38.79 ± 0.21	38.72 ± 0.15
Birth weight (g)	3210.85 ± 61.32	3059.92 ± 65.37	3134.24 ± 45.18
Birth length (cm)	48.24 ± 0.29	47.72 ± 0.32	47.98 ± 0.22
Ponderal index	2.85 ± 0.04	2.79 ± 0.03	2.82 ± 0.03
Body weight/body length	66.33 ± 1.00	63.77 ± 1.05	65.03 ± 0.73
Placental weight (g)	567.38 ± 13.79	546.34 ± 14.07	556.70 ± 9.86
Leptin (ng/mL)	6.75 ± 0.71	10.32 ± 1.10*	8.56 ± 0.68
Insulin (μU/mL)	10.58 ± 0.78	9.98 ± 0.75	10.25 ± 0.54
Adiponectin (μg/mL)	24.10 ± 0.81	25.62 ± 0.84	24.91 ± 0.58

* *p* < 0.01 vs. males.

characteristics are presented in Table 1. All the mothers had singleton pregnancies and uncomplicated deliveries. None of them was taking any medication except for vitamin and iron supplements. All the mothers had a 75-g oral glucose tolerance test performed at 24 to 26 weeks of gestation. Mothers were classified according to World Health Organization 1985 criteria, and the diabetic group was excluded. The anthropometric variables of the newborns studied were birth weight, birth length, body weight/body length, and ponderal index. The latter is expressed by the following formula: ponderal index = body weight (g)/[body length (cm)]³ × 100. Placental weight was also measured at delivery. A blood sample from the umbilical vein was obtained after double clamping of the umbilical cord at birth, and sera for assays were obtained by centrifugation and immediately frozen. Adiponectin and leptin levels were measured using specific radioimmunoassay commercial kits (Linco Research, St. Louis, MO). Intra- and interassay coefficients of variation in both assays were <4% and <8%, respectively. Insulin was measured by radioimmunoassay (Linco Research). All data were expressed as means ± SE, and *p* < 0.05 was considered statistically significant. We compared baseline characteristics between groups using a nonparametric Mann-Whitney *U* test. Correlations were calculated by the Spearman test. Statistical analysis was processed with the SPSS program (SPSS, Inc., Chicago, IL). This study was approved by the local ethics committee, and informed consent was obtained from all mothers.

Results

All newborns had detectable adiponectin concentrations. Overall, cord blood adiponectin concentrations in these newborns ranged from 9 to 42 μg/mL (mean, 24.91 ± 0.58

μg/mL). Leptin levels in cord blood were higher in females than in males (10.32 ± 1.10 vs. 6.75 ± 0.71 ng/mL, *p* = 0.002). Adiponectin levels in males were not different from those in females (24.10 ± 0.81 vs. 25.62 ± 0.84 μg/mL, *p* = 0.280). There were no differences in birth weight, birth length, ponderal index, or body weight/body length between male and female newborns (Table 1).

Considering the whole studied population, leptin and insulin levels were positively correlated with birth weight (*r* = 0.498, *p* = 0.000 and *r* = 0.194, *p* = 0.03, respectively). Adiponectin concentrations in cord blood were positively correlated with birth weight (*r* = 0.185, *p* < 0.05), birth length (*r* = 0.203, *p* < 0.05), body weight/body length (*r* = 0.179, *p* < 0.05; Figure 1), gestational age (*r* = 0.356,

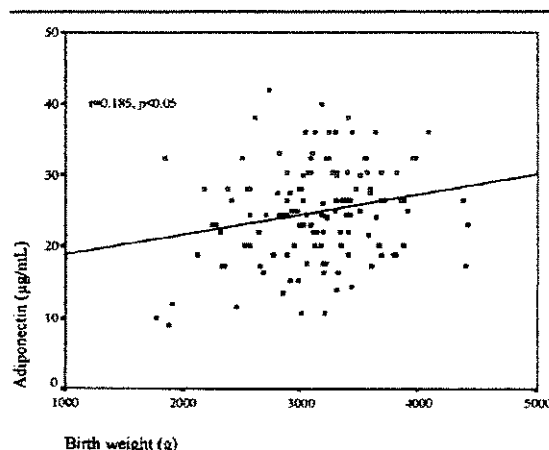


Figure 1: Correlation between adiponectin concentrations in cord blood and birth weight in newborns.

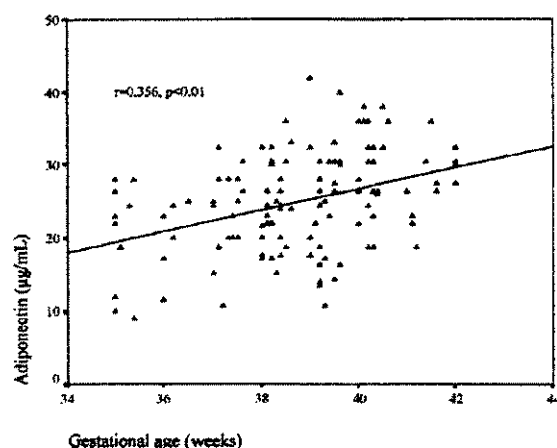


Figure 2: Correlation between adiponectin concentrations in cord blood and gestational age in newborns.

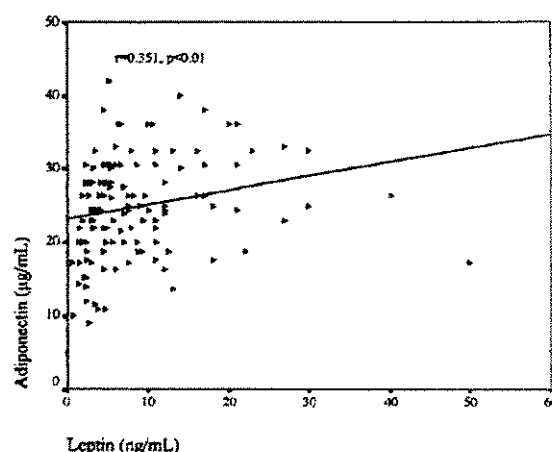


Figure 3: Correlation between cord blood adiponectin and leptin concentrations.

$p < 0.01$; Figure 2), and leptin ($r = 0.351$, $p < 0.01$; Figure 3), but not with placental weight, ponderal index, or insulin levels ($p > 0.05$). After adjustment for birth weight, the correlation between adiponectin and leptin concentrations did not remain significant ($p = 0.120$).

Discussion

Recently, a novel adipose-specific hormone, adiponectin, has been discovered (1), which is exclusively and abundantly expressed in adipose tissue and has high structural homology to collagen VIII, X, and complement C1q (9). Some adult population studies have shown that adiponectin probably has antiatherogenic and anti-inflammatory properties (2,10,11). There is only one report about adiponectin levels in cord blood (8), but this study does not show expected physiological relations with adiposity as observed in adults. Lindsay et al. (8) described adiponectin levels in cord blood of newborns born to diabetic mothers compared with a control group of healthy neonates, where few participants were born at gestational ages < 38 weeks. The purpose of our study was to analyze only newborns in normal physiological growth conditions, thereby avoiding possible confounders in assessing adiponectin in cord blood of newborns with different gestational ages.

Adiponectin was detected in cord blood, and its concentration was positively correlated with birth weight, birth length, body weight/body length, gestational age, and leptin. These data indicate that human fetuses are able to synthesize adiponectin. Furthermore, there is an increase of adiponectin concentrations at delivery in comparison with the levels observed in healthy adults (12). The precise source of this production and its biological significance are unknown.

We speculated that the predominant source of adiponectin in the umbilical cord could be situated in the fetus itself, because there is no in vitro demonstration of placental adiponectin expression and production.

Apparent gender differences in adiponectin levels, with higher levels in women than in men, have been recognized in some studies of adult populations (2). In this study, no gender differences in adiponectin concentrations were found. This is in agreement with Lindsay et al. (8). On the other hand, our results demonstrate a positive correlation between adiponectin levels and body weight/body length, which is a good parameter of the fat content in a newborn. A positive correlation between adiponectin and leptin levels was also found. After adjustment for birth weight, the correlation between adiponectin and leptin levels did not remain significant, demonstrating that adiponectin and leptin concentrations in cord blood are linked with the degree of adiposity in newborns. Despite this, previous reports in adults showed an inverse relationship of BMI, adiposity (2), and leptin (3) with adiponectin concentrations. A recent study (13) has demonstrated that adiponectin was also inversely correlated with BMI and fat mass in an adolescent population.

In our study, insulin levels were not correlated with adiponectin concentrations in cord blood. Similarly, insulin probably does not directly influence adiponectin concentrations in adults (5,14). The lack of relation between adiponectin and cord insulin suggests that, as in adults, circulating insulin levels have little effect on adiponectin concentrations in utero.

There are some reports regarding the production of adiponectin by white adipose tissue that could also be detected in the lineage of brown adipose tissue (15,16). Previously,

using the same assay system, we have shown that adiponectin levels of normal healthy adults were higher than those of obese adults (12.2 ± 1.2 vs. 7.1 ± 1.3 $\mu\text{g/mL}$, respectively) (17). Thus, cord blood adiponectin concentrations were 2- to 3-fold higher than those of healthy nonobese adults in the population we have studied. Interestingly, a recent study with mice revealed that adiponectin levels increase up to 10-fold during sexual maturation (18). Our results suggest that neonatal hyperadiponectinemia could be associated with the increase of adiponectin production by fetal white and/or brown adipose tissue. Furthermore, we speculate that some endocrine, paracrine, and autocrine factor(s) that are responsible for the known suppression of adiponectin production could be reduced in newborns.

In conclusion, these findings indicated that adiponectin was present in the umbilical cord blood at delivery, with higher levels than those found in adults, no gender differences, and positive correlations with birth weight and leptin. Thus, the deleterious association of decreased adiponectin concentrations with increased degree of adiposity and leptin concentrations did not occur at delivery. Further prospective studies may establish the time course of the change from a positive association of adiponectin and leptin in newborns to the negative association found in adults. The clinical implications of the adiponectin-leptin association in newborns remain to be clarified.

Acknowledgments

This study is supported by a grant from the Foundation of Support to the Research of São Paulo State (Brazil). We thank Sandra Pereira for adiponectin and leptin assays.

References

- Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem*. 1995;270:26746-9.
- Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, et al. Correlation of the adipocyte-derived protein adiponectin with the insulin resistance index and serum high-density lipoprotein-cholesterol, independent of body mass index, in the Japanese population. *Clin Sci (Lond)*. 2002;103:137-42.
- Matsubara M, Maruoka S, Katayose S. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *Eur J Endocrinol*. 2002;147:173-80.
- Arita Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257:79-83.
- Hotta K, Funahashi T, Arita Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1595-9.
- Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*. 1999;100:2473-6.
- Christou H, Connors JM, Ziotopoulou M, et al. Cord blood leptin and insulin-like growth factor levels are independent predictors of fetal growth. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:935-8.
- Lindsay RS, Walker JD, Havel P, et al. Adiponectin is present in cord blood but is unrelated to birth weight. *Diabetes Care*. 2003;26:2244-9.
- Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, *apM1* (adipose most abundant gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun*. 1996;221:286-9.
- Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits NF- κ B signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation*. 2000;102:1296-301.
- Yokota T, Oritani K, Takahashi I, et al. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood*. 2000;96:1723-32.
- Yannakoulia M, Yiannakouris N, Blüher S, Matalas AL, Klimis-Zacas D, Mantzoros CS. Body fat mass and macronutrient intake in relation to circulating soluble leptin receptor, free leptin index, adiponectin, and resistin concentrations in healthy humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:1730-6.
- Nemet D, Wang P, Funahashi T, et al. Adipocytokines, body composition, and fitness in children. *Pediatr Res*. 2003;53:148-52.
- Imagawa A, Funahashi T, Nakamura T, et al. Elevated serum concentration of adipose-derived factor, adiponectin, in patients with type 1 diabetes (Letter). *Diabetes Care*. 2002;25:1665-6.
- Yokota T, Meka CS, Medina KL, et al. Paracrine regulation of fat cell formation in bone marrow cultures via adiponectin and prostaglandins. *J Clin Invest*. 2002;109:1303-10.
- Zhang Y, Matheny M, Zolotukhin S, Tümer N, Scarpace PJ. Regulation of adiponectin and leptin gene expression in white and brown adipose tissues: influence of beta3-adrenergic agonists, retinoic acid, leptin and fasting. *Biochem Biophys Acta*. 2002;1584:115-22.
- Geloneze B, Pereira J, Pareja JC, Souza A, Tambascia MA, Muscelli E. Circulating concentrations of adiponectin increase in parallel with enhancement of insulin sensitivity during weight loss in humans. *Diabetes*. 2003;52:A393.
- Combs TP, Berg AH, Rajala MW, et al. Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction and aging affect the adipocyte-specific secretory protein adiponectin. *Diabetes*. 2003;52:268-76.

4.4- APRESENTAÇÃO DO QUARTO ARTIGO:

Inverse relationship between cord blood adiponectin concentrations
and the number of cigarettes smoked during pregnancy.

Diabetes, Obesity and Metabolism, 7(2): 144-147, 2005.

Inverse relationship between cord blood adiponectin concentrations and the number of cigarettes smoked during pregnancy

I. M. C. G. Pardo,¹ B. Geloneze,² M. A. Tambascia² and A. A. Barros¹

¹Department of Pediatrics, University of Campinas-UNICAMP, São Paulo, Brazil

²Department of Endocrinology and Metabolism, University of Campinas-UNICAMP, São Paulo, Brazil

Background: Maternal smoking is linked with several neonatal metabolic disorders. Adiponectin is an adipose-specific hormone with anti-inflammatory and antiatherogenic properties.

Aim: The aim of this study was to evaluate the effect of maternal smoking on cord blood adiponectin concentrations.

Methods: We evaluate the effect of maternal smoking on cord blood adiponectin concentrations comparing 14 full-term and seven preterm newborns born to mothers who smoked during pregnancy with 77 full-term and 10 preterm neonates born to non-smokers mothers.

Results: Maternal smoking during pregnancy was significantly associated with decreased adiponectin levels of preterm newborns ($p < 0.05$).

Conclusions: Our findings also reveal a significant relationship between the reported number of cigarettes smoked during pregnancy and cord blood adiponectin concentrations ($p = 0.01$), suggesting that this association could have a causal relationship.

Keywords: adiponectin, smoking, pregnancy

Received 28 July 2003; returned for revision 27 November 2003; revised version accepted 14 January 2004

Introduction

Adiponectin is an adipocyte-derived protein, which has anti-inflammatory and antiatherogenic properties [1,2]. Adiponectin has been shown to inhibit both the production and action of tumour necrosis factor (TNF)- α , a cytokine that has direct effects on the adhesion molecules [3]. Smoking is one well-established risk factor for cardiovascular disease. Recent data demonstrated that endothelial cells secrete TNF- α in response to nicotine and also shows that endothelial cell growth retardation as a consequence of nicotine exposure may be TNF- α -mediated [4]. Although maternal smoking has been associated with low birth weight, prematurity and several endocrine abnormalities [5,6] seen in newborns born to smoking mothers, the pathophysiological mechanism

remains to be elucidated. It has been unknown whether maternal smoking can influence adiponectin levels in the cord blood of newborns.

Methods

We collected umbilical cord blood from 108 newborns immediately after the birth, divided into four groups: 14 full-term and seven preterm newborns born to mothers who smoked at least two cigarettes per day during pregnancy and 77 full-term and 10 preterm newborns born to non-smokers mothers. The newborns had been selected according to the following criteria: birth weight appropriate for the gestational age (according to the standard growth curve of Lubchenco – commonly used in

Correspondence:

Inês Maria Crespo Gutierrez Pardo, Rua Souza Pereira, 138-Centro Sorocaba-SP-Brazil 18010-320.

E-mail:

doctorpardo@hotmail.com

Brazilian studies – and also by Alexander curve [7] which establishes gender-specific criteria for small for gestational age neonates to avoid their underestimation), gestational age between 35 and 42 weeks, Apgar of first minute more than 7, absence of congenital anomalies, singleton pregnancies and absence of maternal diseases. None of the mothers was taking any medication during the pregnancy. All the pregnant women's weights and heights were measured. Systolic and diastolic blood pressure (BP) were measured in the right arm of all mothers and only participants with normal levels were included. Maternal weight gain during pregnancy was recorded. The mothers who reported alcohol intake during pregnancy were excluded. All the mothers had done a 75-g oral glucose tolerance testing at approximately 24–26 weeks' gestation to exclude diabetes in accordance with WHO 1985 criteria. The anthropometric variables of the newborns studied were birth weight, birth length and ponderal index [body weight (g)/[body length (cm)]³ × 100]. Adiponectin levels were measured by radioimmunoassay (Linco Research, St Charles, MI, USA). All data were expressed as means ± SE; $p < 0.05$ was considered statistically significant. We compared baseline characteristics between smoking and non-smoking groups by non-parametric Mann–Whitney *U*-test. Relations among variables were evaluated by Spearman-rank correlation. Multiple regression analyses (backward stepwise regression) were performed to identify factors of importance for adiponectin concentration and to adjust for potential confounders. For these analyses, the adiponectin values were transformed to log (adiponectin). Analyses were done with *SPSS* software. All mothers gave written informed consent, and ethical approval was obtained from the regional ethics committee.

Results

The clinical characteristics of the mothers of the newborns are described in table 1. The maternal age, pre-

pregnancy weight, height, body mass index and weight gain in pregnancy did not differ between the groups of non-smoking mothers and smoking mothers.

The main baseline characteristics of this study are summarized in the table 2. We observed that both full-term and preterm neonates of smoking mothers were lighter than neonates of non-smoking mothers ($p < 0.05$) and the preterm neonates group of smoking mothers was shorter compared to the preterm group of non-smoking mothers ($p < 0.01$). No gender differences were found in cord blood adiponectin concentrations; hence, we did not stratify this survey for gender.

Adiponectin concentrations in cord blood of preterm newborns born to smoking mothers were significantly ($p < 0.05$) decreased in comparison with adiponectin levels in cord blood of preterm newborns born to non-smoking mothers. Despite the fact that the levels of adiponectin in cord blood of full-term neonates of smoking mothers were lower than the term neonates of non-smoking group, there was no significant difference (table 2). However, we observed that the number of cigarettes smoked by mothers of full-term neonates was lower than the group of preterm newborns ($p < 0.01$).

Multiple linear regression analyses were performed using plasma adiponectin concentration as dependent variable, and birth weight, birth length, maternal smoking, placental weight, gestational age, ponderal index and gender of the newborns as independent variables. Only birth weight was of significant importance ($p < 0.001$).

Another important finding was observed: the inverse relation between adiponectin concentrations and the number of cigarettes smoked by mothers during pregnancy ($p = 0.01$; figure 1).

Discussion

We observed from table 1 that the mothers who smoked during pregnancy did not differ in nutritional status and weight gain during pregnancy compared to the

Table 1 Main clinical characteristics of the mothers

	Full-term neonates		Preterm neonates	
	Non smokers mothers (n = 77)	Smokers mothers (n = 14)	Non smokers mothers (n = 10)	smokers mothers (n = 7)
Maternal age (years)	24.77 (0.73)	25.71 (1.60)	23.90 (1.99)	21.00 (2.70)
Maternal weight (kg)	61.64 (1.60)	57.14 (2.70)	53.60 (2.10)	56.86 (3.78)
Maternal height (cm)	159.51 (1.79)	159.71 (1.66)	158.20 (2.08)	163.86 (3.94)
BMI (kg/m ²)	24.21 (0.60)	22.52 (1.06)	21.34 (0.44)	21.27 (1.33)
Weight gain (kg)	12.12 (0.48)	10.68 (0.77)	10.96 (1.24)	12.14 (2.88)

Data are mean ± SE.

Table 2 Baseline characteristics

	Full-term neonates		Preterm neonates	
	Non smokers mothers (n = 77)	Smokers mothers (n = 14)	Non smokers mothers (n = 10)	smokers mothers (n = 7)
Gestational age (weeks)	38.26 (0.15)	38.96 (0.23)	35.66 (0.18)	35.39 (0.19)
Sex (male/female)	39/38	05/09	07/03	03/04
Birth weight (g)	3211 (32.59)	3026 (66.43)†	2599 (101.69)	2192 (164.75)‡
Length (cm)	48.51 (0.16)	47.75 (0.37)	46.20 (0.44)	42.71 (0.81)*
Ponderal index	2.81 (0.02)	2.78 (0.06)	2.63 (0.06)	2.80 (0.15)
Placental weight (g)	565.84 (11.86)	531.43 (23.06)	515.00 (30.63)	446.43 (29.95)
Number of cigarettes/day	0	11.86 (1.78)	0	25.00 (3.27)
Adiponectin (µg/ml)	25.65 (0.79)	24.18 (1.62)	23.28 (1.52)	16.34 (2.33)‡

Data are mean $\pm$ SE or number.

* $p < 0.01$ vs. preterm neonates of non-smokers mothers.

† $p < 0.05$ vs. full-term neonates of non-smokers mothers.

‡ $p < 0.05$ vs. preterm neonates of non-smokers mothers.

non-smokers mothers. This is important for the analysis, because if these factors were different, they could alter neonatal outcomes, affecting our results.

Smoking during pregnancy promoted lower birth weight and shorter gestational length in the preterm neonates group. The reduced birth weight of infants among smoking women is primarily due to reduced fat-free mass (what is well-established by total body electrical conductivity study [8]), and this decrease in birth weight in newborns of women who smoked could in partly explain the lower levels of adiponectin compared to non-smoking group. Moreover, it appears that the effect of smoking to lower adiponectin concentrations may be more pronounced early in the third trimester of pregnancy than at term. Our results also reveal a significant dose-response relationship between the reported number of cigarettes smoked during pregnancy and

cord blood adiponectin concentrations, suggesting that this association could be causal. We speculated that the decrease of adiponectin in association with the increase of the number of cigarettes smoked is possibly linked with the smoking pathogenesis TNF- α mediated and can potentially contribute to development of metabolic dysfunctions seen in infants born to smoking mothers. In addition, future studies could elucidate whether the association of smoking and lower adiponectin levels was only related with birthweight, which is known to be effected by maternal smoking.

Our survey indicates for the first time that cigarette smoking among pregnant women could influence plasma adiponectin concentration in the preterm neonates. Furthermore, there is an inverse relationship between the number of cigarettes smoked during pregnancy and adiponectin concentrations. Additional studies will probably lead to an understanding of the mechanism(s) by which maternal smoking may affect adiponectin concentrations.

Acknowledgements

This study is supported by grant from FAPESP, Brazil. We also thank Sandra Pereira for adiponectin assays.

References

- 1 Yokota T, Takahashi I, Oritani K *et al.* Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood* 2000; **96** (5): 1723–1732.
- 2 Stefan N, Stumvoll M. Adiponectin – its role in metabolism and beyond. *Horm Metab Res* 2002; **34** (9): 469–474.

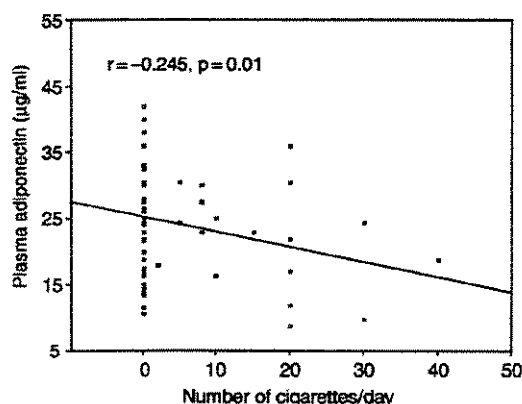


Fig. 1 Correlation between cord blood adiponectin concentrations and the number of cigarettes smoked per day.

- 3 Okamoto Y, Arita Y, Nishida M *et al.* An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. *Horm Metab Res* 2000; **32**: 47–50.
- 4 Albaugh G, Kann B, Strande L, Vemulapalli P, Hewitt C, Alexander JB. Nicotine induces endothelial TNF- α expression, which mediates growth retardation in vitro. *J Surg Res* 2001; **99** (2): 381–384.
- 5 Billaud N, Lemarié P. Negative effects of maternal smoking during the course of pregnancy. *Arch Pediatr* 2001; **8** (8): 875–881.
- 6 Kirchengast S, Hartmann B. Nicotine consumption before and during pregnancy affects not only newborn size but also birth modus. *J Biosoc Sci* 2003; **35** (2): 175–188.
- 7 Alexander GR, Himes JH, Kaufman RB *et al.* A United States National Reference for fetal growth. *Obstet Gynecol* 1996; **87**: 163–168.
- 8 Lindsay SA, Thomas AJ, Catalano PM. The effect of smoking tobacco on neonatal body composition. *Am J Obstet Gynecol* 1997; **177** (5): 1124–1128.

5- DISCUSSÃO GERAL

Os artigos apresentados no capítulo anterior abordam a influência da leptina e da adiponectina no processo de crescimento perinatal. O primeiro artigo demonstra não só a correlação da leptina com parâmetros antropométricos neonatais mas também a presença nítida do dimorfismo sexual, com níveis superiores de leptina no sexo feminino. Já no segundo artigo o enfoque maior é dado ao papel do tabagismo como agente causador de variabilidade nos níveis de leptina quando comparados recém-nascidos adequados para a idade gestacional e com padrões de crescimento similares. Neste último estudo verificou-se que nesta situação particular o tabagismo não parece ter efeito sobre os níveis de leptina. O terceiro artigo enfatiza os níveis superiores de adiponectina encontrados no cordão umbilical, bem como sua correlação positiva com o peso a nascer. No último artigo, encontrou-se, pela primeira vez na literatura, uma relação inversa entre o número de cigarros fumados durante a gestação e as concentrações de adiponectina do cordão umbilical.

Desde a identificação do gene da leptina por ZHANG et al. (1994) uma série de estudos vêm sendo desenvolvidos nas mais diferentes áreas de investigação com o intuito de esclarecer sua fisiologia. Os primeiros estudos sobre a leptina trataram de seus efeitos mais evidentes sobre a regulação do peso e do balanço energético. A descoberta das ações da leptina como supressora do apetite e estimuladora do gasto energético, motivou a pesquisa dos mecanismos centrais envolvidos. Destaca-se na literatura os recentes trabalhos desenvolvidos por pesquisadores brasileiros (CARVALHEIRA et al. 2003; CARVALHEIRA et al. 2005) investigando as interações entre leptina e insulina.

A descoberta da produção de leptina placentária motivou pesquisas na área perinatal, iniciando o questionamento sobre sua participação no processo de crescimento. Atualmente a maioria dos estudos buscam possíveis associações entre leptina e fatores de crescimento, como IGF-I. Seguramente, ainda há muito o que se investigar sobre a complexidade da ação da leptina no processo de regulação do crescimento.

Este foi o primeiro estudo brasileiro sobre os níveis de leptina do cordão umbilical em recém-nascidos. Nossos resultados foram semelhantes aos encontrados na literatura internacional, como os descritos por MATSUDA et al. (1997), SCHUBRING et al. (1997) e ONG et al. (1999).

O primeiro artigo apresentado demonstra que a leptina correlaciona-se moderadamente com parâmetros de crescimento perinatal. Assim, a idade gestacional, o peso, comprimento e índice ponderal ao nascimento estão correlacionados positivamente às concentrações séricas de leptina do cordão umbilical. As razões para esta correlação ainda não estão claramente elucidadas, acredita-se que o aumento dos depósitos subcutâneos e das reservas energéticas do neonato possam estar envolvidos neste processo. Sabe-se que a leptina sinaliza e modula o estado nutricional do organismo para outros sistemas fisiológicos, sendo parte integrante de um complexo sistema que regula o armazenamento, o equilíbrio e a utilização da energia pelo organismo (NEGRÃO & LÍCINIO 2000). É provável que a leptina já desempenhe este papel intra-útero, como sinalizadora das reservas energéticas fetais. Assim desde a fase inicial do desenvolvimento humano, a leptina já sinalizaria sobre as reservas energéticas, em níveis baixos diminuiria o gasto energético, propiciando condições metabólicas favoráveis. Os níveis de leptina em mulheres são superiores aos encontrados em homens, sendo esta diferença atribuída aos níveis superiores de testosterona nos homens, que exerceria um efeito inibitório na produção de leptina. Por outro lado, as mulheres apresentam menores concentrações de receptores de leptina comparadas aos homens (MEIER & GRESSNER 2004). Em crianças não existem estudos sobre os receptores de leptina até o momento.

No estudo apresentado verificou-se que os recém-nascidos do sexo feminino apresentam níveis superiores de leptina quando comparados aos do sexo masculino. Observou-se que a existência do dimorfismo sexual é independente dos níveis dos hormônios sexuais, peso, comprimento e índice ponderal dos recém-nascidos, sugerindo que as diferenças nos depósitos de gordura subcutânea entre os sexos e/ou fatores genéticos possam explicar esta variação da leptina entre os sexos. Estudos futuros utilizando métodos de bioimpedância em neonatos poderão esclarecer se realmente existem diferenças entre os depósitos de gordura subcutânea conforme o sexo ou se o dimorfismo está relacionado a fatores genéticos exclusivamente.

O tabagismo materno durante a gestação é associado a uma série de prejuízos ao recém-nascido: baixo peso ao nascer, prematuridade, maior risco de intercorrências neonatais. Existem pouquíssimos estudos na literatura que abordam o efeito do tabagismo

nas concentrações de leptina no cordão umbilical, sendo os resultados contraditórios. É possível que o pequeno número amostral e a comparação de grupos heterogêneos sejam fatores que atrapalhem a análise, confundindo os resultados. Por isso, no segundo artigo estudado comparamos grupos com características similares quanto ao peso, comprimento e índice ponderal, com o intuito de verificar se o fumo influencia os níveis de leptina neste grupo de recém-nascidos. Além disso, optou-se neste estudo por recém-nascidos de termo e adequados para a idade gestacional, com padrão de crescimento normal. A escolha de recém-nascidos pequenos e/ou grandes poderia resultar em falhas na interpretação dos resultados, pois possivelmente outros fatores estariam envolvidos nestes distúrbios de crescimento.

Não foi encontrada uma possível interferência do fumo conforme os resultados apresentados no segundo artigo. Aliás, com um p tão expressivo ($p=0.915$) entre a leptina dosada no grupo de fumantes e não-fumantes fica difícil imaginar um possível efeito do fumo nesta situação.

Estudo realizado em 2002 (PERKINS & FONTE) em população adulta também não encontrou uma relação direta entre tabagismo e leptina.

É verdade que algumas ressalvas devem ser feitas neste segundo estudo. Primeiro que o número de cigarros fumados pelas gestantes é considerado moderado, sendo interessante realizar estudos futuros comparando o consumo moderado e intenso de cigarros durante a gestação. Outra questão é que ao compararmos grupos similares de recém-nascidos quanto aos padrões de crescimento poderíamos anular o efeito negativo do tabaco e assim mascarar sua possível influência nas concentrações de leptina. Parece, entretanto, que o tabagismo durante a gestação não exerce *per si* efeito na leptina, sendo suas consequências (baixo peso, prematuridade) relacionadas aos níveis inferiores de leptina possivelmente por ocasionarem menores depósitos energéticos, e, por conseguinte, diminuição de depósitos de gordura subcutânea.

Os dois últimos artigos apresentados investigam a adiponectina no cordão umbilical. Esta adipocitoquina, produzida exclusivamente pelo tecido adiposo, foi recentemente descrita (em 1995) e imediatamente foi identificadas suas propriedades

anti-inflamatórias, antiaterogênicas e sensibilizadora insulínica. As vias e os mecanismos que explicam estas propriedades ainda não estão claramente elucidados. Estudo realizado por LINDSAY et al. (2002) demonstrou que pacientes com maiores concentrações de adiponectina apresentam menor possibilidade de desenvolvimento de diabetes tipo 2, sugerindo que a adiponectina seja uma peça-chave entre obesidade, resistência insulínica e consequente desenvolvimento de diabetes tipo 2. Recentemente, foi descrito que gestantes com diabetes gestacional apresentam concentrações bem inferiores de adiponectina comparadas ao grupo controle, confirmando esta hipótese de hipoadiponectinemia e risco de desenvolvimento de diabetes tipo 2 (WILLIAMS et al. 2004).

O terceiro artigo apresentado descreve o achado de níveis superiores de adiponectina do cordão umbilical comparados aos encontrados na população adulta. Trata-se do segundo artigo publicado na literatura a esse respeito, conferindo-lhe particular importância. O artigo de LINDSAY et al. (2003) foi o primeiro artigo publicado que dosou a adiponectina no cordão umbilical. Foram selecionadas gestantes diabéticas em comparação com um grupo controle menor de gestantes sem patologias, e provavelmente, isso explica em parte as diferenças encontradas. Após a publicação de nosso artigo, outros três artigos (CHAN et al. 2004; KAJANTIE et al. 2004; TSAI et al. 2004) confirmaram os resultados de nosso estudo. Estes três estudos encontraram níveis superiores de adiponectina no cordão umbilical, além da correlação positiva da adiponectina com o peso ao nascer.

Como a placenta parece não produzir a adiponectina, uma possível explicação para o aumento em suas concentrações no cordão pode estar ligada ao aumento de sua produção no tecido adiposo fetal, com uma possível participação do tecido adiposo marrom. Existem alguns trabalhos que detectaram a produção de adiponectina no tecido adiposo marrom (YOKOTA et al. 2002; ZHANG et al. 2002).

Outra causa que pode explicar este aumento é a inibição de algum fator supressor da produção da adiponectina nos adipócitos. $\text{TNF-}\alpha$ é uma citocina produzida também pelo tecido adiposo que suprime a produção de adiponectina no adipócito e que contribui para a resistência insulínica, interferindo na sinalização do receptor de insulina (RUAN & LODISH 2003). É possível que em recém-nascidos exista

um bloqueio desta ação supressora do TNF- α sobre a adiponectina, ocasionando aumento em suas concentrações (Figura 3).

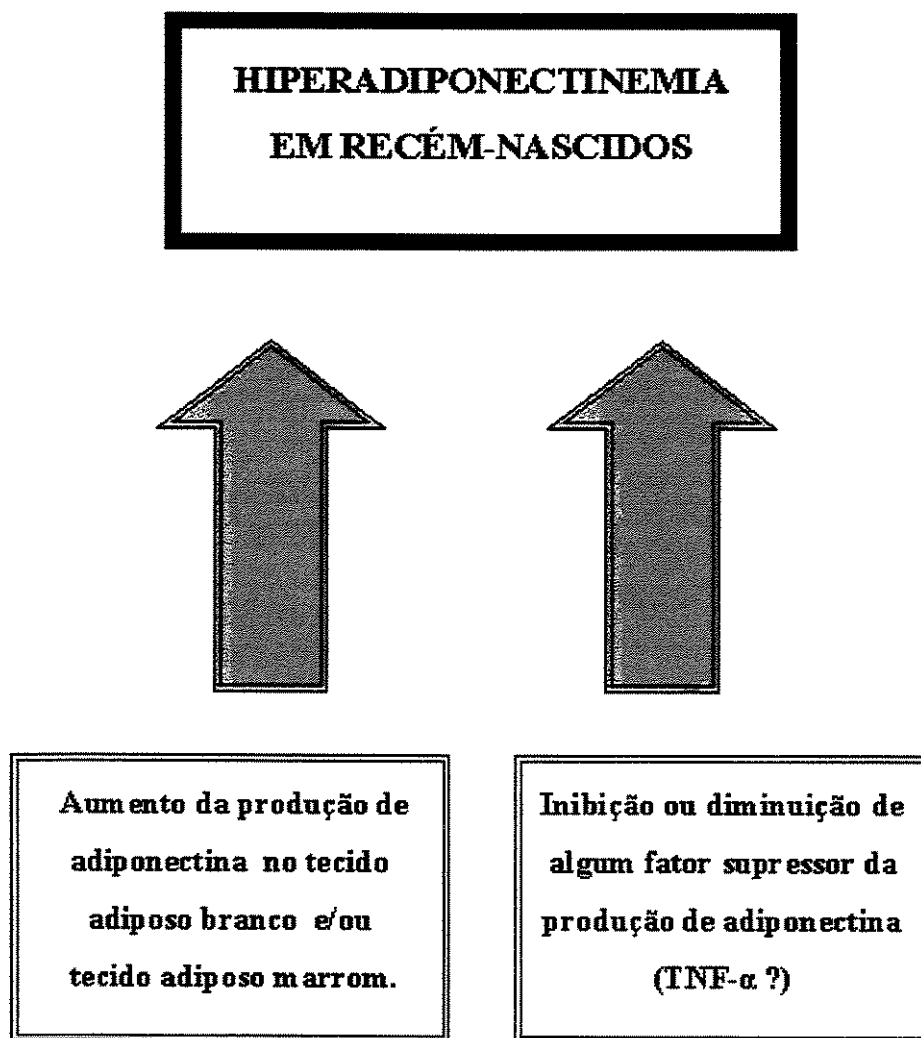


Figura 3- Possíveis causas do aumento das concentrações de adiponectina do cordão umbilical.

Neste estudo não foi encontrada nenhuma correlação entre a adiponectina e a insulina. Assim, parece que a insulina circulante não influencia diretamente as concentrações de adiponectina do cordão umbilical. Achado similar foi descrito em estudo realizado por IMAGAWA et al. (2002) em pacientes adultos.

Enquanto as concentrações de leptina são nitidamente maiores no sexo feminino, os níveis de adiponectina já não apresentaram diferença quanto ao sexo. O estudo de LINDSAY et al. (2003) também não encontrou diferenças entre as concentrações de adiponectina conforme o sexo.

A adiponectina e a leptina apresentaram uma correlação positiva neste terceiro artigo apresentado. Porém esta correlação desaparece após o ajuste para o peso, demonstrando que a adiponectina e a leptina do cordão umbilical estão ligadas ao grau de adiposidade do recém-nascido. Curiosamente, em adultos há uma correlação inversa bem evidente entre o grau de adiposidade e as concentrações de adiponectina (WEYER et al. 2001). Este é o primeiro estudo que identifica a presença de correlação positiva entre a adiponectina e o grau de adiposidade em neonatos. Estudos futuros poderão identificar o momento em que há a conversão para a correlação negativa encontrada na população adulta.

O último artigo apresentado investiga pela primeira vez a adiponectina em recém-nascidos de mães fumantes.

A adiponectina inibe tanto a produção quanto a ação de TNF- α , citocina que tem efeito direto sobre a adesão molecular (OKAMOTO et al. 2000). Por outro lado, o próprio TNF- α suprime a produção de adiponectina (MEIER & GRESSNER 2004). Estudo publicado em 2001 (ALBAUGH et al.) demonstrou que a nicotina estimula a secreção de TNF- α nas células endoteliais.

A presença de uma relação inversa entre o número de cigarros fumados durante a gestação e as concentrações de adiponectina instiga-nos a pensar que o cigarro realmente tenha um efeito adverso persistente no recém-nascido, provavelmente TNF- α mediado, repercutindo nos níveis de adiponectina. Estudos futuros poderão realizar a dosagem de TNF- α conjuntamente com a adiponectina do cordão umbilical para avaliar a relação entre ambas.

Em populações adultas com doença coronariana, também foi descrita uma relação inversa entre tabagismo e níveis de adiponectina (MIYAZAKI et al. 2003).

Conforme este estudo, uma possível explicação para a redução nos níveis de adiponectina em pacientes fumantes seria causada pelo aumento da atividade do sistema nervoso simpático gerada pela própria nicotina. Além disso, sabe-se que os agonistas adrenérgicos inibem a expressão de adiponectina. Outro achado interessante deste estudo foi a correlação inversa entre os níveis de adiponectina e o índice de Brinkman (número de cigarros fumados por dia multiplicado pelo número de anos do hábito de fumar).

Outro resultado interessante descrito no último artigo refere-se aos níveis significativamente inferiores de adiponectina em recém-nascidos prematuros de mães fumantes comparados aos prematuros de mães não-fumantes. Como não encontramos essa diferença significativa no grupo dos neonatos de termo podemos sugerir que o efeito do tabaco é mais intenso quanto menos fisiológica for a situação, ou quando não há padrão normal de crescimento perinatal.

A compreensão da influência do tabagismo materno nos níveis de adiponectina dos recém-nascidos é de grande importância, uma vez que a adiponectina é um hormônio com propriedades anti-inflamatórias. Assim, o decréscimo da adiponectina pode sugerir um perfil metabólico adverso, com possíveis consequências futuras aos recém-nascidos.

6- CONCLUSÕES

Concluindo, observou-se por meio da análise dos artigos apresentados que:

- a leptina pode ser dosada no cordão umbilical de todos os recém-nascidos estudados, tendo apresentado níveis semelhantes aos encontrados na literatura internacional;
- a leptina do cordão umbilical correlacionou-se moderadamente com parâmetros antropométricos dos recém-nascidos, como idade gestacional, peso, comprimento e índice ponderal dos neonatos, sugerindo sua variabilidade conforme o crescimento perinatal;
- recém-nascidos do sexo feminino apresentaram níveis superiores de leptina comparados aos neonatos do sexo masculino, sugerindo que o dimorfismo sexual relacionado à composição corporal já existe em recém-nascidos. Estudos futuros poderão elucidar as razões desta diferença e a influência das variações das distribuições de gordura subcutânea conforme sexo dos neonatos nos níveis de leptina do cordão umbilical;
- o tabagismo materno parece não influenciar diretamente os níveis de leptina em recém-nascidos adequados para a idade gestacional com padrões antropométricos similares, sugerindo que variações de leptina encontradas em alguns estudos estejam relacionadas às menores proporções de depósitos subcutâneos nos neonatos estudados (baixo peso e/ou prematuridade);
- a adiponectina pode ser dosada no cordão umbilical de todos os recém-nascidos estudados, tendo apresentado níveis superiores aos encontrados na população adulta, provavelmente devido ao aumento de sua produção e/ou inibição de fatores supressores da sua produção;
- a adiponectina correlacionou-se com parâmetros antropométricos dos recém-nascidos, como idade gestacional, peso, comprimento e índice ponderal dos neonatos, sugerindo sua variabilidade conforme o crescimento perinatal;
- o tabagismo materno parece influenciar os níveis de adiponectina em recém-nascidos prematuros adequados para a idade gestacional;
- há uma relação inversa entre o número de cigarros fumados durante a gestação e as concentrações de adiponectina do cordão umbilical, sugerindo que possa existir uma relação de causalidade TNF- α mediada.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAN, L.; BUSSIERES, L.; TRIVIN, C.; SOUBERBIELLE, J. C.; BRAUNER, R. Effect of short-term testosterone treatment on leptin concentrations in boys with pubertal delay. **Horm Res**, 52 : 125-130, 1999.
- AHLSTEN, G.; CNATTINGUIS, S.; LINDMARK, G. Cessation of smoking during pregnancy improves fetal growth and reduces infant morbidity in the neonatal period. A population-based prospective study. **Acta Paediatr**, 82: 177-181, 1993.
- ALBAUGH, G.; KANN, B.; STRANDE, L.; VEMULAPALLI, P.; HEWITT, C.; ALEXANDER, J. Nicotine induces endothelial TNF-alpha expression, which mediates growth retardation in vitro. **J Surg Res**, 99(2):381-384, 2001.
- ALEXANDER, G.; HIMES, J.; KAUFMAN, R.; MOR, J.; KOGAN, M. A United States National Reference for Fetal Growth. **Obstet & Gynecol**, 87(2): 163-167, 1996.
- ARITA, Y.; KIHARA, S.; OUCHI, N.; TAKAHASHI, M.; MAEDA, K.; MIYAGAWA, J. et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. **Biochem Biophys Res Commun**, 257:79-83, 1999.
- BADO, A.; LEVASSEUR, S.; ATTOUB, S.; BORTOLUZZI, M. N.; MOIZO, L.; LEHY, T. et al. The stomach is a source of leptin. **Nature**, 394: 790-793, 1998.
- BERATIS, N. G.; VARVARIGOU, A.; MARKRI, M.; VAGENAKIS, A. G. Increased levels and positive correlation between erythropoietin and hemoglobin concentrations in newborn children of mothers who are smoking. **J Pediatr**, 124: 480-482, 1994.
- BERG, A.H.; COMBS, T.P.; DU, X.; BROWNLEE, M.; SCHERER, P.E. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. **Nat Med**, 7:947-953, 2001.
- BERG, A.H.; COMBS T.P.; SCHERER, P.E. Acrp30/adiponectin: an adipocytokine regulating glucose and lipid metabolism. **Trends Endocrinol Metabolism**, 13:84-89, 2002.
- BLUM, W. F.; ENGLARO, P.; HANITSCH, S.; JUUL, A.; KIESS, W.; HEIMAN, M. L. et al. Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: dependence on body mass index, body fat mass, gender, pubertal stage, and testosterone. **J Clin Endocrinol Metab**, 82: 2904-2910, 1997.

BOGAN, J.S. & LODISH, H.F. Two compartments for insulin-stimulated exocytosis in 3T3– L1 adipocytes defined by endogenous ACRP30 and GLUT4. **J Cell Biol**, 146: 609–620, 1999.

BRASIL. Resolução n. 196, de 10 de outubro de 1996. **Cadernos de Ética em Pesquisa Médica**, Brasília, 1996, 34-43.

BROOKE, O. G.; ANDERSON, H. R.; BLAND, J. M.; PEACOCK, J. L.; STEWART, C. M. Effects on birth weight of smoking, alcohol, caffeine, socioeconomic factors, and psychosocial stress. **Br Med**, 298: 795-801, 1989.

CAMPFIELD, L. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. **Science**, 269: 546-549, 1995.

CAPURRO, H.; KONICHEZKY, S.; FONSECA, D.; CALDEYRO-GARCIA, R. A simplified method for diagnosis of gestacional age in newborn infant. **J Pediatr**, 93: 120-122, 1978.

CARVALHEIRA, J.; RIBEIRO, E.; FOLLI, F.; VELLOSO, L.; SAAD, M. Interaction between leptin and insulin signaling pathways differentially affects JAK-STAT and PI 3-kinase-mediated signaling in rat liver. **Biol Chem**, 384(1):151-159, 2003.

CARVALHEIRA, J.; TORSONI, M.; UENO, M.; AMARAL, M.; ARAÚJO, E.; VELLOSO, L.; GONTIJO, J.; SAAD, M. Cross-talk between the insulin and leptin signaling systems in rat hypothalamus. **Obes Res**, 13(1):48-57, 2005.

CHAN, T.F.; YUAN, S.S.; CHEN, H.S.; GUU, C.F.; WU, L.C.; YEH, Y.T. et al. Correlations between umbilical and maternal serum adiponectin levels and neonatal birthweights. **Acta Obstet Gynecol Scand**, 83(2):165-9, 2004.

CINTI, S.; FREDERICH, R. C.; ZINGARETTI, M. C.; DE MATEIS, R.; LOWELL, B. B. Immunohistochemical localization of leptin and uncoupling protein in white and brown adipose tissue. **Endocrinol**, 138: 797-804, 1997.

CLAYTON, P. E.; GILL, M. S.; HALL, C. M.; PRICE, D. A.; TILLMANN, V. ; WHATMORE, A. J. Serum leptin through childhood and adolescence. **Clin Endocrinol**, 46 : 727-733, 1997.

COHEN, B.; NOVICK, D.; RUBINSTEIN, M. Modulation of insulin activities by leptin. **Science**, 274 :1185-1188, 1996.

COMBS, T.P.; BERG, A.H.; OBICI, S.; SCHERER, P.E.; ROSSETTI, L. Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. **J Clin Invest**, 108:1875– 1881, 2001.

CONSIDINE, R. V.; SINHA, M. K.; HEIMAN, M. L.; MARCO, C. C.; BAUER, T. L.; NYCE, M. R. et al.: Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **N Engl J Med**, 334: 292-295, 1996.

CUNNINGHAM, M. J.; CLIFTON, D. K.; STEINER, R. A. Leptin's actions on the reproductive axis: perspectives and mechanisms. **Biol Reprod**, 60: 216-222, 1999.

DESPRES, J.P. The insulin resistance-dyslipidemic syndrome of visceral obesity: effect on patients' risk. **Obes Res**, 6 (Supl.): 8S–17S, 1998.

DOTSCH, J.; MEISSNER, U.; RASCHER, W. Leptin induced weight loss not solely mediated by anorexia. **Eur J Endocrinol**, 148: 11-12, 2003.

EL-HASCHIMI, K.; PIERROZ, D.; HILEMAN, S.; BJORBACK, C.; FLIER, J. Two defects contribute to hypothalamic leptin resistance in mice with diet-induced obesity. **J Clin Invest**, 105:1827-1832, 2000.

ERTL, T.; FUNKE, S.; SARKANY, I.; SZABO, I.; RASCHER, W.; BLUM, W. F. et al. Postnatal changes of leptin in full-term and preterm neonates: their relation to intrauterine growth, gender and testosterone. **Biol Neonate**, 75(3): 167-176, 1999.

FRAYN, K.; KARPE, F.; FIELDING, B.; MACDONALD, I.; COPPACK, S. Integrative physiology of human adipose tissue. **Int J Obes Relat Metab Disord**, 27:875-888, 2003.

GOMEZ, L.; CARRASCOSA, A.; YESTE, D.; POTAU, N.; RIQUE, S.; CUEVAS, P. et al. Leptin values in placental cord blood of human newborns with normal intrauterine growth after 30-32 weeks of gestacion. **Horm Res**, 51(1): 10-14, 1999.

- GROSS, G. A.; SOLENBERGER, T.; PHILPOTT, T.; HOLCOMB, W. L.; LANDT, M. Plasma leptin concentrations in newborns of diabetic and nondiabetic mothers. **Am J Perinatol**, 15(4): 243-247, 1998.
- HALAAS, J.; GAJIWALA, K.; MAFFEI, M.; COHEN, S. L.; CHAIT, B. T.; BURLEY, S. K. et al.: Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the *obese* gene. **Science**, 269: 543-546, 1995.
- HAQUE, W.A.; SHIMOMURA, I.; MATSUZAWA, Y.; GARG, A. Serum adiponectin and leptin levels in patients with lipodystrophies. **J Clin Endocrinol Metab**, 87:2395-2398, 2002.
- HASSINK, S. G.; LANCEY, E.; SHESLOW, D. V.; CONSIDINE, R. V.; DOSTAL, K.; SPEAR, M.L. et al. Placental leptin: important new growth factor in intrauterine and neonatal development? **Pediatrics**, 100(1): E1, 1997.
- HASTE, F. M.; ANDERSON, H. R.; BROOKE, O. G.; BLAND, J. M.; PEACOCK, J. L. The effect of smoking and drinking on the anthropometric measurements of neonates. **Paediatr Perinat Epidemiol**, 5: 83-92, 1991.
- HAUSBERGER, F.X. Parabiosis and transplantation experiments in hereditarily obese mice. **Anat Rec**, 130:313, 1959.
- HELLAND, I. B.; RESELAND, J. E.; SAUGSTAD, O. D.; DREVON, C. A. Leptin levels in pregnant women and newborn infants: gender differences and reduction during the neonatal period. **Pediatrics**, 101(3): E12, 1998.
- HELLAND, I. B.; RESELAND, J. E.; SAUGSTAD, O. D.; DREVON, C. A. Smoking related to plasma leptin concentration in pregnant women and their newborn infants. **Acta Paediatr**, 90(3):282-7, 2001.
- HERVEY, G. R. The effects of lesions in the hypothalamus in parabiotic rats. **J Physiol**, 145:336-352, 1958.

HOTTA, K.; FUNAHASHI, T.; ARITA, Y.; TAKAHASHI, M.; MATSUDA, M.; OKAMOTO, Y. et al. Plasma concentration of a novel adipose specific protein adiponectin in type 2 diabetic patients. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 20:1595–1599, 2000.

HOTTA, K.; FUNAHASHI, T.; BODKIN, N.L.; ORTMAYER, H.K.; ARITA, Y.; HANSEN, B.C.; MATSUZAWA, Y. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. **Diabetes**, 50:1126–1133, 2001.

HU, E.; LIANG P.; SPIEGELMAN, B.M. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. **J Biol Chem**, 18:10697–10703, 1996.

HULLEY, S. B.; CUMMINGS, S. R. **Designing Clinical Research**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1988. p. 219.

IMAGAWA, A.; FUNAHASHI, T.; NAKAMURA, T. MAEDA, K.; MATSUBARA, K. et al. Elevated serum concentration of adipose-derived factor, adiponectin, in patients with type 1 diabetes. **Diabetes Care**, 25:1665–66, 2002.

ISSE, N.; OGAWA, Y.; TAMURA, N.; MASUZAKI, H.; MORI, K.; NISHI, S. et al. Structural organization and chromosomal assignment of the human obese gene. **J Biol Chem**, 270 : 27728–27733, 1995.

JANNUZZI, P. M.; BAENINGER, R. Qualificação socioeconômica e demográfica das classes da escala Abipeme. **Rev de Administração**, 31(3): 82-90, 1996.

KAJANTIE, E.; HYTINANTTI, T.; HOVI, P.; ANDERSSON, S. Cord plasma adiponectin: a 20-fold rise between 24 weeks gestation and term. **J Clin Endocrinol Metab**, 89(8):4031–6, 2004.

KAPPES, A. & LOFFLER, G. Influences of iono-mycin, dibutyryl-cycloAMP and tumor necrosis factor alpha on intracellular amount and secretion of apM1 in differentiating primary human preadipocytes. **Hormone Metab Res**, 32:548 –554, 2000.

- KHARROUBI, I.; RASSCHAERT, J.; EIZIRIK, D.; CNOP, M. Expression of adiponectin receptors in pancreatic β cells. **Biochem Biophys Res Commun**, 312(4): 312-314, 2003.
- KIREL, B.; TEKIN, N.; TEKIN, B.; KILIÇ, F. S.; DOGRUEL, N.; AYDOGDU, S. D. Cord blood leptin levels: relationship to body weight, body mass index, sex and insulin and cortisol levels of maternal-newborn pairs at delivery. **J Pediatr Endocrinol Metab**, 13(1):71-7, 2000.
- KOISTINEN, H. A.; KOIVISTO, V. A.; KONTULA, K.; ANDERSSON, S.; TERAMO, K. A.; OKSANEN, L. et al. Leptin concentration in cord blood correlates with intrauterine growth. **J Clin Endocrinol Metab**, 82: 3328-3330, 1997.
- LEIBEL, R. The role of leptin in the control of body weight. **Nutr Rev**, 60:S15-19, 2002.
- LEPERCQ, J.; LAHLOU, N.; TIMSIT, J.; GIRARD, J.; MOUZON, S. H. Macrosomia revisited: ponderal index and leptin delineate subtypes of fetal overgrowth. **Am J Obstet Gynecol**, 181(3): 621-625, 1999.
- LINDBLAD, A.; MARSAL, K.; ANDERSSON, K. E. Effect of nicotine on human fetal blood flow. **Obstet Gynecol**, 72: 371-382, 1988.
- LINDSAY, R.S.; FUNAHASHI, T.; HANSON, R.; MATSUZAWA, Y.; TANAKA, S.; KNOWLER, W. et al. Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population. **Lancet**, 360: 57-58, 2002.
- LINDSAY, R.S.; WALKER, J.D.; WALKER, J.D.; HAVEL, P.J.; HAMILTON, B.A.; CALDER, A.A. et al. Adiponectin is present in cord blood but is unrelated to birth weight. **Diabetes Care**, 26(8): 2244-2249, 2003.
- LO, H. C.; TSAO, L. Y.; HSU, W. Y.; CHEN, H. N.; YU, W. K.; CHI, C. Y. Relation of cord serum levels of growth hormone, insulin-like growth factors, insulin-like growth factor binding proteins, leptin, and interleukin-6 with birth weight, birth length, and head circumference in term and preterm neonates. **Nutrition**, 18(7-8):604-8, 2002.
- MAFFEIS, C.; MOGHETTI, P.; VETTOR, R.; LOMBARDI, A. M.; VECHINNI, S.; TATO, L. Leptin concentration in newborns' cord blood: relationship to gender and growth-regulating hormones. **Int J Obes Relat Metab Disord**, 23(9): 943-947, 1999.

MANDERSON, J. G.; PATTERSON, C. C.; HADDEN, D. R.; TRAUB, A. I.; LESLIE, H.; MCCANCE, D. R. Leptin concentrations in maternal serum and cord blood in diabetic and nondiabetic pregnancy. **Am J Obstet Gynecol**, 188(5):1326-32, 2003.

MANTZOROS, C. S.; VARVARIGOU, A.; KAKLAMANI, V. G.; BERATIS, N. G.; FLIER, J. S. Effect of birth weight and maternal smoking on cord blood leptin concentrations of full-termo and pre-term newborns. **J Clin Endocrinol Metab**, 82: 2856-61, 1997.

MASUZAKI, H.; OGAWA, Y.; SAGAWA, N.; HOSODA, K.; MATSUMOTO, T.; MISE, H. et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. **Nat Med**, 3: 1029-1033, 1997.

MATSUBARA, M.; MARUOKA, S.; KATAYOSE, S. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. **Eur J Endocrinol**, 147: 173-180, 2002.

MATSUBARA, M.; MARUOKA, S.; KATAYOSE, S. Decreased plasma adiponectin concentrations in women with dyslipidemia. **J Clin Endocrinol Metab**, 87:2764-2769, 2002.

MATSUDA, J.; YOKOTA, I.; IIIDA, M.; MURAKAMI, T.; NAITO, E.; ITO, M. et al. Serum leptin concentration in cord blood: relationship to birth weight and gender. **J Clin Endocrinol Metab**, 82(5): 1642-1644, 1997.

MEIER, U. & GRESSNER, A. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin and resistin. **Clin Chem**, 50(9): 1511-25, 2004.

MERCER, J. G.; HOGGARD, N.; WILLIAMS, L. M.; LAWRENCE, C. B.; HANNAH, L. T.; TRAYHUM, P. Localization of leptin receptor mRNA and the long form splice variant (Ob-Rb) in mouse hypothalamus and adjacent brain regions by in situ hybridization. **FEBS lett**, 387:113-116, 1996.

MILLER, H. C.; HASSANEIN, K. Diagnosis of impaired fetal growth in newborn infants. **Pediatrics**, 48: 511-522, 1971.

MIYASAKI, T.; SHIMADA, K.; MOKUNO, H.; DAIDA, H. Adipocyte derived plasma protein, adiponectin, is associated with smoking status in patients with coronary artery disease. **Heart**, 89(6):663, 2003.

MONTAGUE, C.; FAROOQU, S.; WHITEHEAD, J. P.; SOOS, M. A.; RAU, H.; WAREHAM, N. J. et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. **Nature**, 387:903-908, 1997.

MONTE, O.; LONGUI, C. A.; CALLIARI, L. E. P. **Endocrinologia Pediátrica**. São Paulo: Editora Atheneu, 1998.

NEGRÃO, A. B.; LICINIO, J. Leptina: o Diálogo entre Adipócitos e Neurônios. **Arq Bras Endocrinol Metab**, 44/3: 205-214, 2000.

NISWENDER, K.; MORRISON, C.; CLEGG, D.; OLSON, R.; BASKIN, D.; MYERS, M. et al. Insulin activation of phosphatidylinositol 3-kinase in the hypothalamic arcuate nucleus: a key mediator of insulin-induced anorexia. **Diabetes**, 52(2):227-231, 2003.

OGUEH, O.; SOORANNA, S.; NICOLAIDES, K. H.; JOHNSON, M. R. The relationship between leptin concentration and bone metabolism in the human fetus. **J Clin Endocrinol Metab**, 85: 1997-1999, 2000.

OKAMOTO, Y.; ARITA, Y.; NISHIDA, M.; HOTTA, K.; MAEDA, K.; KURIYAMA, H. et al. An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. **Horm Metab Res**, 32: 47-50, 2000.

ONG, K. K.; AHMED, M. L.; SHERRIFF, A.; WOODS, K. A.; WATTS, A.; DUNGER, D. B. et al. Cord blood leptin is associated with size at birth and predicts infancy weight gain in humans. **J Clin Endocrinol Metab**, 84(3): 1145-111148, 1999.

ORAL, E.; SIMHA, V.; RUIZ, E.; ANDEWELT, A.; SNELL, P.; PREMKUMAR, A. et al. Leptin-replacement therapy for lipodystrophy. **N Engl J Med**, 346: 570-578, 2002.

ORTEGA, R. M.; GASPAR, M. J.; CANTERO, M. Influence of maternal serum lipids and maternal diet during the third trimester of pregnancy on umbilical cord blood lipids in two populations of Spanish newborns. **Int J Vitam Nutr Res**, 66(3): 250-257, 1996.

OUCHI, N.; KIHARA, S.; ARITA, Y.; NISHIDA, M.; MATSUYAMA, A.; OKAMOTO, Y. et al. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. **Circulation**, 103:1057–1063, 2001.

PELLEYMOUNTER, M.; CULLEN, M.; BAKER, M.; HECHT, R.; WINTERS, D.; BOONE, T. et al.: Effects of the *obese* gene product on body weight regulation in ob/ob mice. **Science**, 269: 540-543, 1995.

PEREIRA, G. R.; GEORGIEFF, M. K. Nutritional assessment. Fetal and Neonatal Physiology. In: POLIN, R.A., FOX, W.W. **Fetal and Neonatal Physiology**, vol 1. Philadelphia: WB Saunders; 1992, p.277-285.

PERKINS, K. & FONTES, C. Effects of smoking status and smoking cessation on leptin levels. **Nicotine Tob Res**, 4(4):459-66, 2002.

PERSSON, B.; WESTGREN, M.; CELSI, G.; NORD, E.; ORTQVIST, E. Leptin concentrations in cord blood in normal newborn infants and offspring of diabetic mothers. **Horm Metab Res**, 31(8): 467-471, 1999.

PISCHON, T.; GIRMAN, C.J.; HOTAMISLIGIL, G.S.; RIFAI, N.; HU, F.B.; RIMM, E.B. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. **JAMA**, 291:14, 2004.

RANTAKALLIO, P. A follow-up study to the age 15 of children whose mothers smoked during pregnancy. **Acta Paediatr Scand**, 72: 747-752, 1983.

ROHNER, F. Aspects of the neuroendocrine regulation of body weight homeostasis. **Am Endocrinol**, 63:125-128, 2002.

ROHRER, F. Der index der Körperfülle als mass des ernährungszustandes. **Münch Med Wochenschr**, 68: 580-582, 1921.

RUAN, H. & LODISH H. Insulin resistance in adipose tissue: direct and indirect effects of TNF- α . **Cytokine Growth Factor Rev**, 14:447-453, 2003.

SANDHOFER, A.; LAIMER, M.; EBENBICHLER, C.; KASER, S.; PAULWEBER, B.; PATSCH, J. Soluble leptin receptor and soluble receptor-bound fraction of leptin in metabolic syndrome. **Obes Res**, 11:760-768, 2003.

SCHERER, P.E.; WILLIAMS, S.; FOGLIANO, M.; BALDINI G.; LODISH, H.F. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. **J Biol Chem**, 270: 26746–26749, 1995.

SCHUBRING, C.; ENGLARO, P.; SIEBLER, T.; BLUM, W. F.; DEMIRAKCA, T.; KIESS, W. et al. Longitudinal analysis of maternal serum leptin levels during pregnancy, at birth and up to six weeks after birth: relation to body mass index, skinfolds, Sex steroids and umbilical blood leptin levels. **Horm Res**, 50(5): 276-283, 1998.

SCHUBRING, C.; KIESS, W.; ENGLARO, P.; RASCHER, W.; DOTSCH, J.; BLUM, W. F. et al. Levels of leptin in maternal serum, amniotic fluid, and arterial and venous cord blood: relation to neonatal and placental weight. **J Clin Endocrinol Metab**, 82(5): 1480-1483, 1997.

SCHWARTZ, M. W.; WOODS, S. C.; PORTE, D.; SEELY, R. J.; BASKIN, D. G. Central nervous system control of food intake. **Nature**, 404:661-671, 2000.

SEELY, R. J. ; SCHWARTZ, M. W. Neuroendocrine regulation of food intake. **Acta Paediatr**, 428 : 58-61, 1999.

SHEKHAWAT, P. S.; GARLAND, J. S.; SHIVPURI, C.; MICK, G. J.; SASIDHARAN, P.; PELZ, C. J. et al. Neonatal cord blood leptin: its relationship to birth weight, body mass index, maternal diabetes, and steroids. **Pediatr Res**, 43(3): 338-343, 1998.

SMITH, U.; AXELSEN, M.; CARVALHO, E.; ELIASSON, B.; JANSSON, P.A.; WESSLAU, C. Insulin signaling and action in fat cells: associations with insulin resistance and type 2 diabetes. **Ann N Y Acad Sci**, 892:119–126, 1999.

SPINILLO, A.; CAPUZZO, E.; NICOLA, S. E.; COLONNA, L.; EGBE, T. O.; ZARA, C. Factors potentiating the smoking-related risk of fetal growth retardation. **Br J Obstet Gynaecol**, 101: 954-958, 1994.

STEFAN, N.; VOZAROVA, B.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y.; WEYER, C.; LINDSAY, R.S. et al. Plasma adiponectin concentration is associated with skeletal muscle insulin receptor tyrosine phosphorylation and low plasma concentration precedes a decrease in whole-body insulin sensitivity in humans. **Diabetes**, 51: 1884–1888, 2002.

STEFAN, N.; BUNT, J.C.; SALBE, A.D.; FUNAHASHI, T.; MATSUZAWA, Y.; TATARANNI, P.A. Plasma adiponectin concentrations in children: relationships with obesity and insulinemia. **J Clin Endocrinol Metab**, 87(10): 4652-56, 2002.

TAKAHASHI, Y.; YOKOYAMA, Y.; KAWABATA, I.; IWASA, S.; TAMAYA, T. Leptin as an acute stress-related hormone in the fetoplacental circulation. **Obstet Gynecol**, 100(4):655-8, 2002.

TAMURA, T.; GOLDENBERG, R. L.; JOHNSTON, K. E.; CLIVER, S. P. Serum leptin concentrations during pregnancy and their relationship to fetal growth. **Obstet Gynecol**, 91(3): 389-395, 1998.

TARQUINI, B.; TARQUINI, R.; PERFETTO, F.; CORNELISSEN, G.; HALBERG, F. Genetic and environmental influences on human cord blood leptin concentration. **Pediatrics**, 103(5): 998-1006, 1999.

TARTAGLIA, L. A. The leptin receptor. **J Biol Chem**, 272 : 6093-6096, 1997.

TOMAS, E. ; TSAO, T. ; ZHANG, C.; ITANI, S. ; SAHA, A. ; MURREY, H. et al. Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: acetyl CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation. **Proc Natl Acad Sci USA**, 99 :16309-13, 2002.

TOME, M. A.; LAGE, M.; CAMINA, J. P.; GARCIA-MAYOR, R. V.; DIEGUEZ, C.; CASANUEVA, F. F. Sex-based differences in serum leptin concentrations from umbilical cord blood at delivery. **Eur J Endocrinol**, 137(6): 655-658, 1997.

TOUW, I. P.; DE KONING, J. P.; WARD, A. C.; HERMANS, M. H. Signaling mechanisms of cytokine receptors and their perturbances in disease. **Mol Cell Endocrinol**, 160:1-9, 2000.

TSAI, P.J.; YU, C.H.; HSU, S.P.; LEE, Y.H.; CHIOU, C.H.; HSU, Y.W. et al. Cord plasma concentrations of adiponectin and leptin in healthy term neonates: positive correlation with birthweight and neonatal adiposity. **Clin Endocrinol (Oxf)**, 61(1):88-93, 2004.

VAN DEN BRANDLE, J. L. Somatomedins on the move. **Horm Res**, 33: 58- 68, 1990.

VENIANT, M. & LEBEL, C. Leptin: from animals to humans. **Curr Pharm Des**, 9:811-818, 2003.

WEYER, C.; FUNAHASHI, T.; TANAKA, S.; HOTTA, K.; MATSUZAWA, Y.; PRATLEY, R.E.; TATARANNI, P.A. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. **J Clin Endocrinol Metab**, 86:1930–1935, 2001.

WILLIAMS, M.; QIU, C.; RIVERA, M.; VADACHKORIA, S.; SONG, T.; LUTHY, D. Plasma Adiponectin Concentrations in Early Pregnancy and Subsequent Risk of Gestational Diabetes Mellitus. **J Clin Endocrinol Metab**, 89(5):2306-2311, 2004.

WOLF, H. J.; EBENBICHLER, C. F.; HUTER, O.; BODNER, J.; PATSCH, J. R.; FOGER, B. et al. Fetal leptin and insulin levels only correlate in large-for-gestational age infants. **Eur J Endocrinol**, 142: 623-629, 2000.

YAMAUCHI, T.; KAMON, J.; WAKI, H.; TERAUCHI, Y.; KUBOTA, N.; HARA, K. et al. The fat derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. **Nat Med**, 7:941–946, 2001.

YAMAUCHI, T.; KAMON, J.; MINOKOSHI, Y.; ITO, Y.; WAKI, H.; UCHIDA, S. et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. **Nat Med**, 8:1288 –1295, 2002.

YAMAUCHI, T.; KAMON, J.; MINOKOSHI, Y.; ITO, Y.; WAKI, H.; UCHIDA, S. et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate anti-diabetic metabolic effects. **Nature**, 423: 762-769, 2003.

YANG, S. W.; KIM, S. Y. The relationship of the levels of leptin, insulin-like growth factor-I and insulin in cord blood with birth size, ponderal index and gender difference. **J Pediatr Endocrinol Metab**, 13(3): 289-296, 2000.

YOKOTA, T.; MEKA, C.; MEDINA, K.; ORITANI, K.; TAKAHASHI, I. et al. Paracrine regulation of fat cell formation in bone marrow cultures via adiponectin and prostaglandins. **J Clin Invest**, 109:1303-10, 2002.

ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L.; FRIEDMAN, J. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, 372:425-432, 1994.

ZHANG, Y.; MATHENY, M.; ZOLOTUKHIN, S.; TUMER, N.; SCARPACE, P. Regulation of adiponectin and leptin gene expression in white and brown adipose tissues: influence of beta3-adrenergic agonists, retinoic acid, leptin and fasting. **Biochem Biophys Acta**, 1584:115-122, 2002.

8- ANEXO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

NOME DO PROJETO: *Há relação entre leptina do sangue do cordão umbilical e crescimento fetal?*

PESQUISADORES: *Prof. Dr. Antonio de Azevedo Barros Filho; Inês Maria Crespo Gutierrez Pardo*
(Pesquisadora Responsável).

INSTITUIÇÃO: Departamento de Pediatria - Universidade Estadual de Campinas –
UNICAMP.

ENDEREÇO: Cidade Universitária Zeferino Vaz - Barão Geraldo - Campinas - SP

CEP: 13083 - 970. **Telefone para contato:** (0**15) 97744158.

NOME DA GESTANTE: _____

IDADE: _____ **RG:** _____

Nº REGISTRO HOSPITALAR : _____

ENDEREÇO:

Você está sendo convidada a participar de um projeto de pesquisa que se realizará pelo Departamento de Pediatria do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP. Este projeto requer seu consentimento voluntário.

Este projeto de pesquisa é sobre a relação que a leptina, que é uma substância produzida pelo nosso organismo, pode possuir com o processo de crescimento do recém-nascido. Além disso serão dosadas no sangue do cordão umbilical outras substâncias, pesquisando sua relação com a leptina. A leptina é uma substância produzida pelas células gordurosas que está sendo muito estudada atualmente e parece estar associada com o controle do apetite e também com a reprodução. Acredita-se também que esta substância diminui em grávidas que fumam, atrapalhando o crescimento do feto.

A decisão de participar no estudo é voluntária. A decisão de não participar do estudo não provocará problemas em relação ao seu tratamento ou de seus familiares em nosso hospital, clínica ou instituição, nem agora nem no futuro. Por favor, leia atentamente as informações a seguir neste documento e não deixe de perguntar o que não estiver claramente explicado para você.

O estudo será feito em 2 etapas: primeira fase: entrevista da mãe, medidas de peso e altura, idade gestacional do recém-nascido e coleta do sangue do cordão umbilical, após retirada da placenta e segunda fase: dosagens laboratoriais.

RISCOS E DESCONFORTOS - A coleta de amostras de sangue do cordão umbilical não provoca nenhum problema para a mãe nem para o recém-nascido. O sangue será coletado imediatamente após a retirada da placenta. No total, serão coletados 10 ml de sangue, numa coleta única.

POSSÍVEIS VANTAGENS - Os exames que você realizará para esta pesquisa serão oferecidos sem qualquer custo. Se em algum exame for encontrada alguma anormalidade, será imediatamente comunicada ao seu médico, e será arquivada em seu prontuário.

SIGILO - Os dados de seu prontuário médico são confidenciais e serão utilizados todos os meios necessários para preservá-los. As informações obtidas serão registradas em fichas próprias. Os resultados do estudo poderão ser publicados em revistas médicas, apresentados em congressos ou eventos científicos ou para as autoridades sanitárias sem que seu nome apareça em nenhuma delas. Você deverá assinar este consentimento informado sobre o estudo, de acordo com as normas éticas no atendimento de saúde.

Estando de acordo, assinam:

ASSINATURA DA GESTANTE _____

ASSINATURA DO PESQUISADOR _____

DATA ____ / ____ / _____