

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 25/02/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA

Sarah Maria Barneze Costa

**NÍVEIS DE NUTRIENTES E DA EXPRESSÃO DE SEUS RECEPTORES
EM MULHERES COM DIABETES MELLITUS GESTACIONAL E
INCONTINÊNCIA URINÁRIA ESPECÍFICA DA GESTAÇÃO**

*Nutrient levels and the expression of their receptors in women with gestational
diabetes mellitus and pregnancy specific urinary incontinence*

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, para obtenção
do título de Doutora em
Tocoginecologia.

Orientadora: Prof.^a Emérita Marilza Vieira Cunha Rudge

Coorientadora: Prof.^a Dra. Angélica Mércia Pascon Barbosa

Coorientador: Prof. Dr. Raghavendra Hallur Lakshmana Shetty

**Botucatu
2023**

Sarah Maria Barneze Costa

**Níveis de Nutrientes e da Expressão de seus Receptores em Mulheres
com Diabetes Mellitus Gestacional e Incontinência Urinária
Específica da Gestação**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, para obtenção
do título de Doutora em
Tocoginecologia.

Orientadora: Prof.^a Emérita Marilza Vieira Cunha Rudge
Coorientadora: Prof.^a Dra. Angélica Mércia Pascon Barbosa
Coorientador: Prof. Dr. Raghavendra Hallur Lakshmana Shetty

Botucatu
2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA ANDRADE CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Costa, Sarah Maria Barneze.

Níveis de nutrientes e da expressão de seus receptores em mulheres com diabetes mellitus gestacional e incontinência urinária específica da gestação / Sarah Maria Barneze Costa.
- Botucatu, 2023

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Marilza Vieira Cunha Rudge
Coorientador: Angélica Mércia Pascon Barbosa
Coorientador: Raghavendra Hallur Lakshmana Shetty
Capes: 40101150

1. Diabetes Gestacional. 2. Expressão gênica.
3. Incontinência urinária. 4. Minerais. 5. Vitaminas.

Palavras-chave: Diabetes Gestacional; Expressão Gênica;
Incontinência Urinária; Minerais; Vitaminas.

Impacto esperado na sociedade desta tese de doutorado produzida no Programa de Pós-graduação em Tocoginecologia da UNESP

O conhecimento das possíveis alterações promovidas pelo Diabetes *Mellitus* Gestacional (DMG) nos níveis de macronutrientes e micronutrientes, bem como na expressão de seus receptores específicos, possui um potencial científico, técnico, social, inovador, econômico, educacional e cultural significativo. O estudo abrirá novas perspectivas para o diagnóstico, tratamento e prevenção da Incontinência Específica da Gestação (IU-EG), além de promover avanços na medicina personalizada e melhorar a saúde materna e fetal.

Do ponto de vista científico, entender essas alterações permitirá identificar biomarcadores para a IU-EG, possibilitando um diagnóstico mais preciso e eficiente. Isso impulsionará avanços na pesquisa científica relacionada à gravidez e às doenças metabólicas, abrindo caminho para novas descobertas e terapias.

Em termos técnicos, o conhecimento dessas alterações proporcionará a base para o desenvolvimento de métodos de triagem mais sofisticados e precisos, permitindo uma detecção precoce da IU-EG. Isso terá um impacto direto na prática clínica, possibilitando medidas terapêuticas e preventivas adequadas, promovendo a saúde materna e fetal.

No aspecto social, o entendimento dessas alterações permitirá fornecer orientações dietéticas e recomendações de suplementação nutricional personalizadas para mulheres com risco de desenvolver IU-EG. Isso contribuirá para a promoção de uma gestação saudável e redução dos impactos negativos na saúde das mães e bebês.

Além disso, do ponto de vista inovador, a descoberta de biomarcadores e a implementação de medidas terapêuticas e preventivas baseadas na alimentação adequada e suplementação nutricional abrirão portas para novas abordagens no campo da medicina personalizada,

onde o tratamento é adaptado às necessidades individuais.

No âmbito econômico, a identificação desses biomarcadores e a adoção de medidas preventivas terão um impacto positivo nos sistemas de saúde, reduzindo os custos associados ao tratamento de complicações da IU-EG e melhorando a eficiência dos cuidados pré-natais.

Do ponto de vista educacional e cultural, o avanço nesse campo de pesquisa ampliará o conhecimento científico sobre a gravidez e as doenças metabólicas associadas. Isso será compartilhado através de publicações, conferências e outros meios de divulgação, contribuindo para a educação médica e a conscientização pública sobre a importância da alimentação adequada durante a gravidez.

Expected Impact on Society of this doctoral thesis produced in the Postgraduate Program in Obstetrics and Gynecology at UNESP

The knowledge of the potential alterations caused by Gestational Diabetes Mellitus (GDM) in macronutrient and micronutrient levels, as well as in the expression of their specific receptors, holds significant scientific, technical, social, innovative, economic, educational, and cultural potential. This study will open new perspectives for the diagnosis, treatment, and prevention of Gestational-Specific Incontinence (PSUI) while promoting advances in personalized medicine and improving maternal and fetal health.

From a scientific standpoint, understanding these alterations will enable the identification of biomarkers for GSI, allowing for a more precise and efficient diagnosis. This will drive advancements in scientific research related to pregnancy and metabolic disorders, paving the way for discoveries and therapies.

In technical terms, knowledge of these alterations will provide the foundation for the development of more sophisticated and accurate screening methods, enabling early detection of GSI. This will have a direct impact on clinical practice, facilitating appropriate therapeutic and preventive measures that promote maternal and fetal health.

On the social front, understanding these alterations will enable the provision of personalized dietary guidelines and recommendations for nutritional supplementation to women at risk of developing GSI. This will contribute to the promotion of a healthy pregnancy and reduce negative impacts on the health of mothers and babies.

Moreover, from an innovative perspective, the discovery of biomarkers and the implementation of therapeutic and preventive measures based on appropriate nutrition and nutritional supplementation will open doors to new approaches in personalized medicine, where treatment is tailored to individual needs.

From an economic standpoint, the identification of these biomarkers and the adoption of preventive measures will have a positive impact on healthcare systems by reducing costs associated with the treatment of GSI complications and improving the efficiency of prenatal care.

From an educational and cultural standpoint, advancements in this research field will expand scientific knowledge about pregnancy and associated metabolic disorders. This knowledge will be shared through publications, conferences, and other means of dissemination, contributing to medical education and public awareness of the importance of proper nutrition during pregnancy.

Dedicatórias

À **Deus**, por ter me dado a vida, todo seu amor infinito, carinho, bondade, compaixão e discernimento para realizar esse trabalho, me livrando dos perigos e adversidades, bem como me dando forças para enfrentar os obstáculos surgidos pelo caminho do Doutorado. Por todas as suas bênçãos em minha vida, e me manter firme em todos os dias, mesmo em dias difíceis e de desânimo.

Aos meus pais, **Carlinhos e Adélia**, por serem pais responsáveis, bons, amorosos, gentis e por terem me passado valores e princípios que vou levar por toda a vida. Por estarem sempre comigo, e me apoiarem na vida acadêmica seja com palavras de incentivo ou através de atos de amor.

Aos meus irmãos, **Adelita, César e Jonas**, por crescerem comigo, pelas alegrias compartilhadas, por estarem sempre ao meu lado nos momentos bons e ruins. Pela ajuda em todos esses anos de puro companheirismo.

À minha **avó, tios e primos**, que vem desde o mestrado me auxiliando no caminho da vida acadêmica, por serem acolhedores e ótimos companheiros. Pelas adoráveis reuniões em família e comemorações em datas especiais.

Ao meu sobrinho, **Joaquim**, sempre amoroso e presente em todos os momentos da minha vida. Seu carinho é um conforto para o coração.

Aos meus **amigos pessoais**, pelo apoio emocional e pela distração, passeios e conversas animadas.

Aos **pacientes da pesquisa e seus familiares**, com o objetivo de melhorar a saúde e a qualidade de vida dos pacientes que sofrem com condições clínicas que interferem em seu bem-estar.

À **UNESP**, por ser uma faculdade pública de excelência e referência na área da saúde principalmente no campus de Botucatu.

Agradecimientos

À **Prof.^a Emérita Marilza Vieira Cunha Rudge**, pela disponibilidade de me orientar nessa jornada do Doutorado, por seus ensinamentos e experiências transferidas, além de ser uma excelente profissional, competente, humana, responsável e corajosa, conduzindo de forma brilhante as pesquisas na FMB-UNESP, sempre pensando no bem-estar das pacientes com muito amor. Uma pessoa muito especial a nível pessoal e profissional. Nunca me esquecerei. Muito obrigada. Não tenho palavras para agradecer o tamanho da ajuda em tudo. Tenho muita honra em fazer parte da história da FMB-UNESP e poder contribuir um pouquinho com a pesquisa do Estado de São Paulo.

À **Prof.^a Dra. Angélica Mércia Pascon Barbosa**, por ser essa coorientadora muito presente, mesmo a quilômetros de distância, sempre muito acolhedora e verdadeira, conduzindo nosso grupo de pesquisa com ternura, realizando pesquisas de ponta, acreditando no potencial de cada aluno do grupo, compassiva e motivadora. Enfim, vou lembrar de seus ensinamentos para sempre. Uma pessoa muito especial a nível pessoal e profissional. Muito obrigada por tudo. Nunca me esquecerei.

À **Vickeline Namba e Juliana Ferreira**, por meio delas conheci o grupo de pesquisa da Professora Marilza e Professora Angélica.

Ao **João Paulo Marcondes**, por ter me ajudado na estrutura inicial do meu projeto de Doutorado, por ter compartilhado comigo experiências acadêmicas que me acrescentaram e muito, com isso pude me interessar ainda mais pela vida acadêmica.

Ao **Grupo de Pesquisa Diamater**, por terem dividido a rotina da maternidade comigo, muito obrigada por todos esses anos de convivência e companheirismo. São colegas de trabalho que sempre estão dispostos a ajudar e também deixam a trajetória da vida acadêmica menos solitária.

Ao **José Vitor Melo**, por ser um amigo muito amoroso e fiel em todos os momentos da rotina da maternidade.

Aos **Colegas de Pós-graduação do Programa de Tocoginecologia e de outros programas da Faculdade de Botucatu – Câmpus de Botucatu (FMB), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)**, que conviveram comigo nesses quatro anos e deixaram meus dias mais felizes e me motivaram nas disciplinas, seminários e experimentos.

Ao **David Reyes**, pelo companheirismo, amizade e todos os momentos da rotina da maternidade.

Ao **Programa de Tocoginecologia FMB-UNESP**, por ter me dado a oportunidade de ingressar no programa de pós-graduação no Brasil, e me conduzir a carreira de docente que tanto almejo na área de nutrição materno-infantil.

À **todos os professores e a secretária do programa de pós-graduação**, sem vocês nada disso seria possível, obrigada por todo o apoio e serviços prestados.

À **Secretaria Geral dos Programas de Pós-Graduação da FMB-UNESP**, por ter me auxiliado, rapidamente, em tudo o que precisei, seja histórico escolar, formulários, cronogramas e dúvidas. Muito obrigada por tudo.

À **UNESP**, por ser essa Universidade tão completa, disposta a fornecer tudo o que o aluno precisa, desde professores renomados e técnicos de laboratórios/administrativos, além de salas de aula, laboratórios e anfiteatros em ótimo estado. A Universidade ensina o aluno a tornar-se um excelente profissional, assim como estar apto para o mercado de trabalho após o curso de pós-graduação.

À **Diretoria da FMB-UNESP**, pelos gestores competentes e pelas tomadas de decisões tão importantes na Instituição.

À **Administração Geral da FMB-UNESP**, pela excelente organização e por todos os funcionários da administração, estão sempre prestativos e prontos para ajudar.

Ao **Escritório de Pesquisa**, principalmente a Cinthia Scolastico, Rita de Cássia Athanázio e Fernanda Minicucci, por serem ótimas pessoas, rápidas, competentes e sempre dispostas a ajudar. São muito especiais. Obrigada por tudo.

Ao **Hospital das Clínicas da FMB (HCFMB)**, por dar permissão para a realização da pesquisa do meu Doutorado e proporcionar ferramentas, no dia a dia, com o intuito de deixar a prática clínica mais rígida e funcional, melhorando a cada dia mais para o desenvolvimento hospitalar e científico.

À **Enfermaria da Maternidade do HCFMB**, profissionais de saúde, enfermeiros, técnicos de enfermagem, médicos, fonoaudiólogos, nutricionistas, fisioterapeutas, psicólogos, auxiliares administrativos, oficiais de segurança, que estiveram sempre presentes no meu dia a dia, muito educados e que compõem essa enfermaria como um time, dispostos a ajudar com amor os pacientes e acompanhantes.

Ao **Centro de Investigação do Diabete Perinatal da FMB-UNESP**, pela captação dos pacientes e por ser imprescindível e importante para as pesquisas clínicas de toda a história da FMB-UNESP.

À **todas as pacientes do estudo de Botucatu e de outras cidades/países**, que vieram com seus acompanhantes para realizar sua rotina hospital e se prontificaram a participar da pesquisa com muito entusiasmo e interesse. As pacientes foram excelentes e compreensivas em todos os aspectos da pesquisa, desde a assinatura do termo de consentimento até a avaliação antropométrica. Muito obrigada a todas, sem vocês essa pesquisa não existiria.

Aos **acompanhantes das pacientes**, por serem solícitos em tudo. Nunca tive nenhum problema com as pacientes e acompanhantes. Muito obrigada por serem amáveis. Tudo de melhor na vida de vocês.

À **chefe da Maternidade do HCFMB**, por autorizar o desenvolvimento da pesquisa nesses quatro anos.

À **Enfermeira Janaina Camargo**, por ter coletado os exames das pacientes e estar todas as manhãs nessa rotina comigo, sendo parceira e imprescindível para a coleta.

Ao **Enfermeiro João**, pelo apoio na coleta dos exames e sempre ajudando nos procedimentos com alegria.

Ao **Laboratório de Análises Clínicas do HCFMB**, por todas as análises bioquímicas realizadas e por todos os funcionários, sempre alegres e prestativos.

Ao **Laboratório Alvaro**, por todos os serviços prestados e pela rapidez na análise dos resultados, equipe bem preparada e treinada.

À **Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPLEX) da FMB-UNESP**, por todos os funcionários, técnicos de laboratório, pelo excelente armazenamento das amostras de pesquisa e pelo recebimento dos materiais. Vocês são demais.

Ao **Nutrilife Software de Nutrição**, pelo auxílio dietético na quantificação dos questionários alimentares e por proporcionar ferramentas eficientes para as análises que queríamos realizar.

Ao **Laboratório Redox e Inflamação da UNIPLEX**, especialmente a Prof.^a Camila Corrêa e alunas dela, por todo companheirismo e execução das técnicas do meu projeto de Doutorado, uma equipe maravilhosa e unida, nunca me esquecerei. Muito obrigada por tudo.

À **Unidade de Pesquisa Clínica da FMB-UNESP**, pela disponibilidade de nossa sala de pesquisa, sendo essencial para a funcionalidade das pesquisas clínicas, sempre com funcionários dispostos a ajudar e prestativos.

Ao **Prof. Hélio Nunes**, por toda análise estatística e por ser um exemplo de pontualidade e inteligência. Muito obrigada.

Ao **Hallur Shetty**, por ajudar nos artigos e na tradução dos artigos. Que sua vida seja sempre iluminada. Profissional exemplar e amigo.

À **Escola de Idiomas ICBEU de Botucatu**, por ter me auxiliado na proeficiência em inglês.

À **Prof.^a Mônica Mattiello**, por ter me auxiliado nas aulas particulares de inglês.

Ao **Prof. Willian Zambuzzi**, professor associado da FMB-UNESP, por ser um excelente professor, na área profissional e pessoal, sempre encorajando e motivando os alunos. Um professor cheio de luz e bondade. Obrigada por me encorajar na trajetória acadêmica, foi muito importante para mim.

À **orientadora do mestrado Prof.^a Célia Regina Nogueira**, por todos os ensinamentos apreendidos no Mestrado que me serviram para o Doutorado e para a vida. Muito obrigada por tudo.

À **Divisão Técnica de Biblioteca e Documentação da Biblioteca da UNESP, Campus de Botucatu**, por todos os livros emprestados, por todas as horas passadas na biblioteca nos estudos e por todos os serviços prestados.

Ao **Postinho da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, localizado na Biblioteca da UNESP, Campus de Botucatu, por tirar minhas dúvidas e serem muito prestativos em tudo, desde documentação da FAPESP até informações e dicas.

Ao **Prof. Sérgio Felisbino, alunos Nilton Santos e Mateus Fioretto**, por terem me ajudado na realização dos experimentos. Vocês foram essenciais e especiais. Sempre muito bem-humorados e prestativos. Muito obrigada.

Às **Empresas ThermoFisher, Sigma-Aldrich, Mega Científica, Medlab Elohim e Bio-Rad, e seus funcionários**, por todos os materiais de consumo fornecidos por essas empresas para a realização da pesquisa. Também, por serem

competentes na emissão dos boletos e notas fiscais, e pelo recebimento dos materiais ser feito de forma segura e sem danificações dos materiais. Muito obrigada pela organização e disciplina.

Ao Departamento de Ciências Humanas da Nutrição e Alimentação do Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Botucatu, por ter me aceitado no estágio em docência, e ter acrescentado muito conteúdo científico na área de nutrição, experiências na área de docência no curso superior de nutrição e aprendizados diversos como profissional, isso contribuiu para meu crescimento. Muito obrigada.

À Professora Thábata Weber, docente do Curso de Nutrição do Instituto de Biociências de Botucatu da UNESP, por ter me aceitado no estágio em docência, por ser essa professora inteligente, prestativa, sempre preocupada com os alunos e em seu aprendizado. Vou levar para sempre seus ensinamentos e organização durante as aulas. Muito obrigada por tudo e continue brilhando.

Ao Laboratório NeoGene da FMB-UNESP, principalmente a **Professora Patrícia Pintor, Igor Deprá, Márcio e Tainara** por me ajudarem a realizar os experimentos. Sempre foram gentis e prestativos, fizeram meus dias melhores, pois fazer experimento já tem uma certa dificuldade. Assim, tiveram uma contribuição muito grande em todo meu trabalho de pesquisa. Muito obrigada por tudo e pelo apoio.

À todas as pessoas especiais que encontrei pelo caminho durante meu Doutorado, por fazerem a diferença seja com uma palavra ou ação que acrescentaram em meu crescimento profissional. Muito obrigada.

Ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FMB-UNESP, pela aprovação do projeto de pesquisa de Doutorado (CAEE: 82225617.0.0000.5411) e com isso permitiu a realização do presente trabalho. Muito obrigada pela colaboração técnica e científica.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** (Número do processo: 88882.432899/2019-01), por ter me dado auxílio financeiro nos primeiros meses do meu Doutorado. Muito obrigada pelo apoio, e pelo incentivo dado a pesquisa no Brasil. Uma grande Instituição que gera resultados de qualidade e pesquisas de ponta, trazendo tecnologia e melhoria para a população brasileira.

À **FAPESP e todos os seus funcionários**, por ser meu órgão de fomento desde o Mestrado, me dando apoio científico e financeiro (Número do processo da Bolsa de Doutorado: 2018/22905-9 e número do processo do Projeto Temático: 2016/01743-5). Muito obrigada pelo apoio e por toda a contribuição para a pesquisa no Brasil. Uma grande Instituição que é um exemplo de organização, competência e tecnologia científica. Teve muita importância em todo meu crescimento profissional.



Epígrafe

“Nada verdadeiramente valioso surge da ambição ou de um mero senso de dever, mas de amor e devoção para com os homens e para com as coisas objetivas.”

Albert Einstein

Lista de Figuras

Contextualização

Figura 1	Modelo Conceitual Integral do Diamater entre DMG, UI-EG e miopatia hiperglicêmica na prevalência de UI a longo prazo.....	34
Figura 2	Mediadores e moderadores entre a variável preditora e o desfecho do DIAMATER (Projeto Temático).....	35
Figura 3	Efeitos do excesso e da deficiência de vitamina A, vitamina C, vitamina E, magnésio, zinco e ferro em gestantes e em recém-nascidos. +: excesso; -: deficiência.....	38

Artigo 1

Figure 1	Study design.....	65
Figure 2	Flow diagram of the study.....	65
Figure 3	Anthropometric measurements of GDM-PSUI group compared with 3 control groups (values expressed as mean and standard deviation).....	67
Figure 4	Dietary intake of nutrients in GDM-PSUI compared with 3 control groups (values expressed as mean and standard deviation).....	69
Figure 5	Biochemical markers in GDM-PSUI compared with 3 control groups (values expressed as mean and standard deviation).....	71

Artigo 2

Figure 1	Flow diagram of the study.....	96
Figure 2	Dietary intake and biochemical markers of nutrients in GDM-PSUI compared with 3 control groups (values expressed as mean and standard deviation).....	97
Figure 3	Gene expression in GDM-PSUI compared with 3 control groups (values expressed as mean and standard deviation).....	98
Figure 4	Protein Expression in GDM-PSUI compared with 3 control groups (values expressed as mean and standard deviation).....	99
Figure 5	Oxidative stress markers in GDM-PSUI compared with 3 control groups (values expressed as mean and standard deviation).....	100

Lista de Tabelas

Artigo 1

Table 1	Characteristics of pregnant women by groups (percentage values).....	67
---------	--	-----------

Artigo 2

Table 1	Expression Primers Sequences and PCR Cycle Conditions.....	93
---------	--	-----------

Lista de Abreviaturas

Português e Inglês

Lista de abreviaturas em português

CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CIDPN	Centro de Investigação do Diabetes Perinatal
DM	Diabetes <i>Mellitus</i>
DMG	Diabetes <i>Mellitus</i> Gestacional
Dra.	Doutora
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FMB	Faculdade de Medicina de Botucatu
HCFMB	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu
IU-EG	Incontinência Urinária Específica da Gestação
Prof.	Professor
Prof. ^a	Professora
UNESP	Universidade Estadual Paulista – “Julio de Mesquita Filho”
UNIPEX	Unidade de Pesquisa Experimental

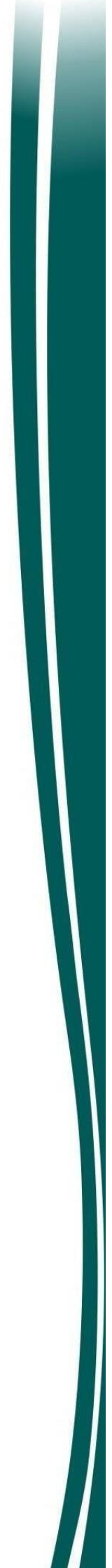
Lista de abreviações em Inglês

%	Percentage
°C	Celsius
µl	Microliter
AI	Adequate Intake
BMI	Body Mass Index
cm	Centimeter
cm ²	Centimeter per Square
dL	Deciliter
DM	Diabetes Mellitus
DNA	DeoxyriboNucleic acid
DNPH	2,4-Dinitrophenylhydrazine
DRI	Dietary Reference Intakes
Et al.	“And Others”
FPGS	Folypolyglutamate Synthase
g	Grams
GAPDH	Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase
GDM	Gestational Diabetes Mellitus
HIV	Human Immunodeficiency Virus
Kg	Kilogram
L	Liters
m	Meter
m ²	Square Meter
MDA	Malondialdehyde
mcg	Micrograms
ml	Milliliter
mg	Milligram
mm	Millimeter
MTF1	Metal Regulatory Transcription Factor 1
n	The population sizes
nm	Nanometer
OGTT	glucose tolerance test

PSUI	pregnancy-specific urinary incontinence
p	P-value
RNA	Ribonucleic Acid
ROS	Reactive Oxygen Species
rpm	Revolutions per minute
RXRA	Retinoid X Receptor Alpha
TBA	Trichloroacetic acid
TFRC	Transferrin Receptor
TRAP1	TNF Receptor Associated Protein 1
TRPM6	Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily M Member 6
ug	Microgram
UI	International Units

Sumário

Seção 1	Trajetória acadêmica	30
Seção 2	Contextualização	33
	Conhecimento das possíveis alterações promovidas pelo Diabetes Mellitus Gestacional em nível de micronutrientes e da expressão de seus receptores específicos para fornecer informações para a identificação de biomarcadores para a IU-EG	
	Referências	39
Seção 3	Resumos Expandidos	42
	Resumo da Tese	43
	<i>Thesis Abstract</i>	48
Seção 4	Artigos	53
	Artigo 1: Role of Dietary Food Intake Patterns, Antropometric Measures and Multiple Biochemical Markers in the Development of Pregnancy Specific Urinary Incontinence in Gestational Diabetes Mellitus.	
	Title page	55
	Abstract	56
	Introduction	59
	Patients and Methods.....	63
	Results	66
	Discussion	73
	Conclusion	76
	References	78
	Artigo 2: Transferrin Receptor Gene and Protein Expression are Reduced in Diabetic Pregnant Women with Specific Urinary Incontinence of Pregnancy.	
	Title page	85
	Abstract	86
	Introduction	88
	Patients and Methods.....	91
	Results	95
	Discussion	100
	Conclusion	103
	References	104
Seção 5	Perspectivas Acadêmicas e Científicas	110
Seção 6	Diamater Study Group	112
Seção 7	Anexos	115



Seção 1

Trajectoria Acadêmica

Desde criança, fui interessada por alimentação saudável e elaborações de receitas culinárias. Além disso, sempre tive uma rotina equilibrada com a prática de exercícios físicos diários e fiz *ballet* por anos.

Quando cheguei ao terceiro colegial, optei por fazer Nutrição após um teste vocacional na escola, e iniciei meus estudos. Escolhi a nutrição como profissão com o intuito de ajudar as pessoas a se sentirem melhores e serem mais saudáveis, podendo prevenir futuras doenças.

Na época da faculdade, a disciplina que mais me chamava à atenção era a de nutrição materno-infantil, a que mais gostava e me identificava. A apostila de nutrição materno-infantil era a mais utilizada e lida.

Depois de me formar em 2012, comecei a clinicar em minha cidade, Jaú, e fazer especialização em nutrição clínica e aprimoramento hospitalar. Atendia gestantes e crianças, e trabalhei, temporariamente, na maternidade Santa Isabel em Bauru. Mas, uma coisa não saía da minha mente, desde a saída da faculdade, a vontade de fazer Mestrado, o desejo era grande.

Após dois anos clinicando em Jaú, conheci uma Prof.^a da especialização, Dra. Maria Fernanda Biagioni, que me falou da oportunidade de fazer Mestrado em Botucatu com o grupo de pesquisa de doenças endócrinas comandado pela Prof.^a Titular Célia Regina Nogueira.

Em 2015, entrei no Mestrado em Fisiopatologia em Clínica Médica pela FMB-UNESP com bolsa FAPESP (processo: 14/15529-0) e fiz sanduiche na Universidade de Lisboa, em Portugal. O estágio internacional foi na Universidade de Lisboa pelo projeto: “RNA regulomics the role of non coding RNA in human health and disease”. Também, na época do mestrado fui membro da comissão permanente de pesquisa por 1 ano da FMB-UNESP.

Depois de concluir meu mestrado em 2017, decidi me aperfeiçoar na pesquisa clínica e conheci o grupo de pesquisa Diamater através da Dra. Juliana Floriano. Me interessei pelos projetos do grupo voltados para a população de gestantes. No grupo Diamater, estavam precisando de alguém para realizar análise de expressão proteica, e como tinha experiência nessa prática, integrei no grupo de pesquisa Diamater como bolsista PROPe no Apoio a Equipamentos Multiusuários da UNESP (Projeto Vigentes de Grande Porte) sob responsabilidade da Prof.^a Emérita Marilza Vieira Cunha Rudge.

Em 2019, comecei o Doutorado em Tocoginecologia com a Prof.^a Emérita

Marilza Vieira Cunha Rudge e coorientadora Prof.^a Dra. Angélica Mércia Pascon Barbosa com bolsa FAPESP (processo: 18/22905-9) na área que tanto almejo de nutrição materno-infantil desde a faculdade, o que fiquei muito feliz e gratificada. Esses quatro anos de Doutorado foram intensos e cresci na carreira acadêmica de forma excelente com publicações, apresentações, experimentos e aulas.

Seção 2

Contextualização

Conhecimento das possíveis alterações promovidas pelo Diabetes *Mellitus* Gestacional em nível de nutrientes e da expressão de seus receptores para fornecer informações para a identificação de biomarcadores para a Incontinência Urinária Específica da Gestação

O Diabetes *Mellitus* Gestacional (DMG) mesmo tratado de acordo com padrões internacionais da *American Diabetes Association* (ADA), e institucionalizado no Centro de Investigação do Diabete Perinatal (CIDPN- projeto InfraIV da Fapesp), está associado com a maior ocorrência de Incontinência Urinária (IU) 2 anos pós-parto cesárea.

O tratamento com dieta isolada ou associada à insulina foi insuficiente para evitar o efeito deletério da hiperglicemia gestacional controlada sobre a IU – específica da gestação (IU-EG) que foi fator de risco para IU 2 anos pós-parto e disfunção muscular do assoalho pélvico. Barbosa et al., 2011 [1], a procura de marcadores dessa miopatia caracteriza o projeto temático Diamater intitulado “Coorte da tríade gestacional: hiperglicemia, incontinência urinária e perfil clínico, molecular e ômico da miopatia hiperglicêmica na predição de incontinência e disfunção muscular e pesquisa translacional com biodevice para regeneração muscular em ratas” (Processo FAPESP: 2016/01743-5).

O Modelo Conceitual Integrado do Diamater estabelecido (Figura 1) evidencia essa relação entre DMG e IU-EG, miopatia hiperglicêmica e IU 12 meses pós-cesárea.

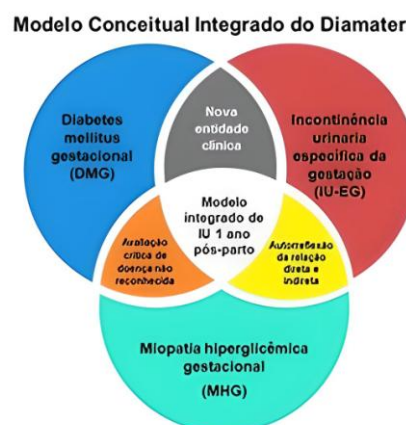


Figura 1. Modelo Conceitual Integral do Diamater entre DMG, UI-EG e miopatia hiperglicêmica na prevalência de UI em longo prazo.

A presente tese de Doutorado se insere como variável moderadora que precisa ser analisada em profundidade para avaliar o impacto da variável preditora (DMG e IU-EG) sobre o desfecho (IU 12 meses pós-parto cesária). Nessa tese de Doutorado, a variável mediadora (Miopatia hiperglicêmica) não foi analisada (Figura 2).

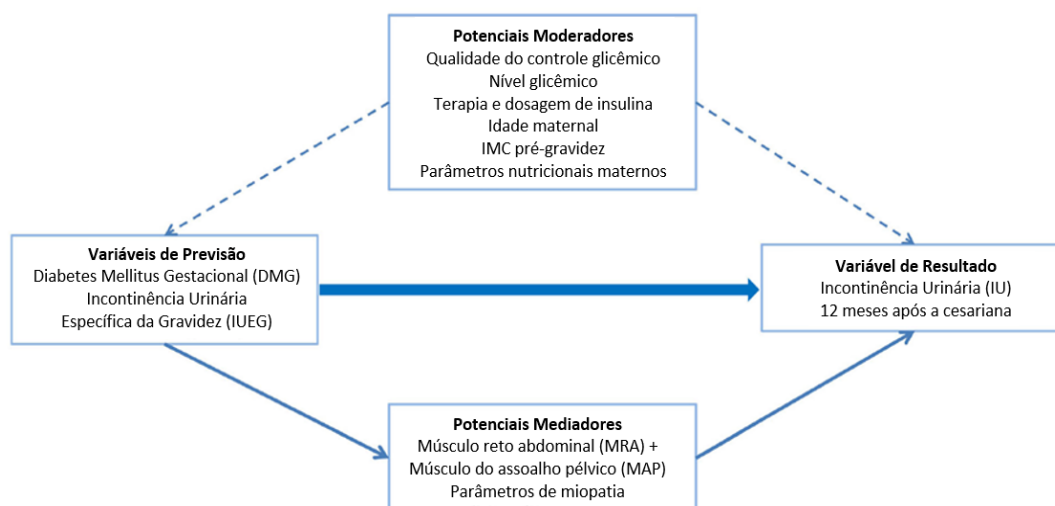


Figura 2. Mediadores e moderadores entre a variável preditora e o desfecho do DIAMATER (Projeto Temático).

Durante o período gestacional, a mulher passa por diversas adaptações endócrinas e metabólicas desde modificações na sensibilidade a insulina até alterações nos níveis circulantes do colesterol [2,3]. Com esses eventos, ocorre a produção de hormônios como é o caso do lactogênio placentário conforme o crescimento placentário. A placenta é o órgão separador da circulação materna e fetal, e a secreção de hormônios é associada ao efeito anti-insulina proporcionado por hormônios, o que contribui para a progressão da resistência insulínica, tendo o tecido muscular da gestante maior impacto com a resistência insulínica do que o tecido gorduroso [4]. Além disso, ainda no primeiro trimestre da gravidez, a resistência à insulina encontra-se em níveis normais, porém, conforme a evolução da gestação, essa condição tende a aumentar e levar ao quadro possivelmente diabetogênico associado a outros fatores maternos como a idade avançada e a obesidade [5].

O DMG é caracterizado pela hiperglicemia e qualquer nível de intolerância a glicose diagnosticado durante a gravidez pelo rastreamento entre 24-28 semanas

gestacionais [5,6]. As mulheres que apresentaram disfunções metabólicas subclínicas tais como sensibilidade a insulina e/ou produção pancreática não adequada previamente à gravidez, possuem mais chances de desenvolver o DMG, bem como as gestantes obesas. Ao contrário, aquelas gestantes com peso normal tem menor probabilidade de desenvolver o DMG [2,3]. O DMG é a desordem metabólica mais comum na gestação. A prevalência mundial de DMG é de 14%, resultante em 20 milhões de nascimentos por ano [7]. As possíveis causas do DMG não são bem estabelecidas, porém o *status* nutricional, sedentarismo, predisposição genética e obesidade são as mais investigadas [8]. As alterações nos níveis do lactogênio placentário e fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 são relacionadas com o desenvolvimento do DMG [8,9]. Além disso, o DMG promove efeitos deletérios perinatais e tardios para o recém-nascido e para a gestante [9]. Os recém-nascidos de mães com DMG tem maiores chances de desenvolver macrossomia, distócia de ombro, hipoglicemia neonatal, síndrome do desconforto respiratório e obesidade na vida adulta [2,3,9]. Na gestante, há maior probabilidade de desenvolver diabetes *mellitus* do tipo 2 e complicações como a miopatia diabética [8,9]. Também, a obesidade foi determinada como risco para o desenvolvimento da IU devido à pressão excessiva intra-abdominal e pélvica da gordura [10-12].

Desta forma, nosso grupo de pesquisa “Diabetes e Gravidez - Clínico e Experimental” (CNPq - Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP) vem estudando, desde 2006, a relação da IU associado com o DMG [13-14], entretanto esse quadro clínico junto à ingestão de macronutrientes e micronutrientes dietéticos, medidas antropométricas e dosagens bioquímicas, bem como a expressão de receptores relacionados à nutrientes ainda não esta elucidada nesse contexto.

O adequado estado nutricional materno é essencial para o desenvolvimento fetal e a ingestão de nutrientes em quantidades adequadas, segundo a “*Dietary Reference Intakes*” [15], proporciona a mulher uma gestação normal, pois alterações metabólicas como a hiperglicemia levam a modificações na absorção, metabolização, excreção e biodisponibilidade de nutrientes, bem como na expressão de seus receptores. As quantidades de nutrientes em gestantes com DMG e IU-EG são pouco conhecidas, no momento apenas alguns estudos [16-20] descreveram essas condições clínicas separadamente, mas não associadas, e também não na condição de IU-EG. Além disso, o diagnóstico das deficiências de

micronutrientes deve ser melhorado, já que os estudos são limitados em relação às várias idades gestacionais e paridade.

Os micronutrientes fazem parte da composição de novas células, fatores de transcrição, enzimas e retardam o estresse oxidativo na gestação, porém o consumo inadequado de micronutrientes pode comprometer esses processos metabólicos. A carência de nutrientes leva a diminuição da fertilidade materna, alterações no peso do recém-nascido e resistência insulínica na vida adulta do bebê. Além disso, hábitos alimentares errôneos, falha na absorção intestinal, tabagismo e adaptações maternas gestacionais (cardiovasculares, gastrointestinais e renais) afetam ainda mais as deficiências nutricionais [19-21]. Gestantes fumantes têm as concentrações de vitamina A, C, e E diminuídas na corrente sanguínea comparadas àquelas gestantes não fumantes [19].

Durante a gestação, a hiperglicemia provoca modificações mitocondriais placentárias, desequilíbrio na homeostase do ferro e aumento das espécies reativas de oxigênio (ROS) [22]. A vitamina A, C e E são potentes antioxidantes e auxiliam na reversão do estresse oxidativo, visto ser amplamente documentado na literatura. A Organização Mundial da Saúde evidenciou que 50% das gestantes tem deficiência de vitamina A durante a gestação [19]. Também, durante esse período, há um maior fluxo sanguíneo materno, sendo frequente a carência de vitamina C, além dessa condição ser rotineira. De acordo com Mangir *et al.* [23], a vitamina C atua como cofator na produção da enzima prolil hidroxilase, responsável pela formação da reticulação de fibrilas de colágeno do tecido conjuntivo do assoalho pélvico. A falha no processo de síntese e degradação do colágeno, devido à carência da vitamina C, leva ao desenvolvimento da IU [19]. Ainda de acordo com Monaco *et al.* [24], altos níveis de vitaminas antioxidantes auxiliam na redução dos danos ocasionados pela miopatia diabética.

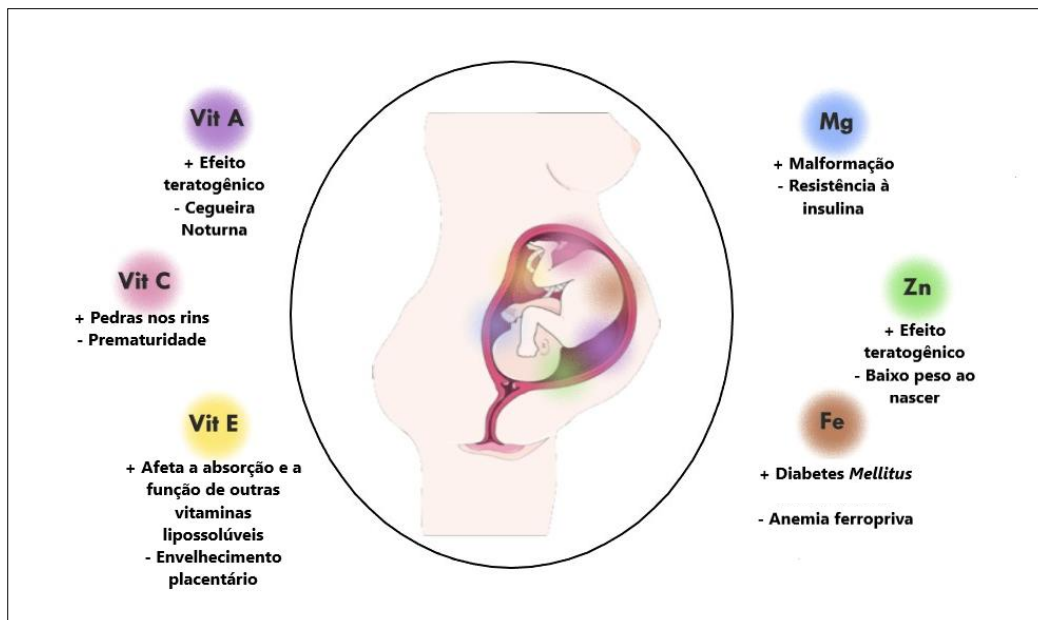


Figura 3. Consequências do excesso e da deficiência de micronutrientes (vitamina A, vitamina C, vitamina E, magnésio, zinco e ferro). Sinal Positivo (+): excesso do micronutriente; Sinal negativo (-): deficiência do micronutriente.

Portanto, o objetivo da presente tese de doutorado foi descrever as alterações no estado nutricional maternas, níveis de macronutrientes e micronutrientes dietéticos, exames bioquímicos, marcadores de estresse oxidativo e a análise da expressão gênica e proteica de receptores específicos em gestantes com DMG e IU-EG.

Assim, o conhecimento das possíveis alterações promovidas pelo DMG ao nível de macronutrientes e micronutrientes, bem como da expressão de seus receptores específicos, podem fornecer informações para a identificação de biomarcadores para a IU-EG, além de subsidiar a prática clínica com medidas terapêuticas e/ou preventivas por meio da alimentação adequada e/o suplementação nutricional, ampliando as áreas de estudos nessas doenças.

Os resultados obtidos na tese estão apresentados em 2 artigos de acordo o respectivo objetivo:

Artigo 1 - *Role of Dietary Food Intake Patterns, Antropometric Measures and Multiple Biochemical Markers in the Development of Pregnancy Specific Urinary Incontinence in Gestational Diabetes Mellitus.*

Artigo 2 - *Transferrin Receptor Gene and Protein Expression are Reduced in Diabetic Pregnant Women with Specific Urinary Incontinence of Pregnancy.*

Referências

1. Barbosa, A. M. P., Adriano Dias, G. M., Calderon, I. M. P., Witkin, S., & Rudgel, M. V. C. (2011). Urinary incontinence and vaginal squeeze pressure two years post-cesarean delivery in primiparous women with previous gestational diabetes mellitus. *Clinics*, 66(8), 1341–1345. <https://doi.org/10.1590/S1807-59322011000800006>
2. Benhalima, K., Van Crombrugge, P., Moyson, C., Verhaeghe, J., Vandeginste, S., Verlaenen, H., Vercammen, C., Maes, T., Dufraimont, E., De Block, C., Jacquemyn, Y., Mekahli, F., De Clippel, K., Van Den Bruel, A., Loccufier, A., Laenen, A., Minschart, C., Devlieger, R., & Mathieu, C. (2019). Characteristics and pregnancy outcomes across gestational diabetes mellitus subtypes based on insulin resistance. *Diabetologia*, 62(11). <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4961-7>
3. Goedegebure, E. A. R., Koning, S. H., Hoogenberg, K., Korteweg, F. J., Lutgers, H. L., Diekman, M. J. M., Stekkinger, E., van den Berg, P. P., & Zwart, J. J. (2018). Pregnancy outcomes in women with gestational diabetes mellitus diagnosed according to the WHO-2013 and WHO-1999 diagnostic criteria: A multicentre retrospective cohort study. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12884-018-1810-5>
4. Olmos-ortiz, A., Flores-espinosa, P., Díaz, L., Velázquez, P., Ramírez-isarraraz, C., & Zaga-clavellina, V. (2021). Immunoendocrine dysregulation during gestational diabetes mellitus: The central role of the placenta. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 15). <https://doi.org/10.3390/ijms22158087>
5. Ladyman, S. R., & Brooks, V. L. (2021). Central actions of insulin during pregnancy and lactation. In *Journal of Neuroendocrinology* (Vol. 33, Issue 4). <https://doi.org/10.1111/jne.12946>
6. McIntyre, H. D., Catalano, P., Zhang, C., Desoye, G., Mathiesen, E. R., & Damm, P. (2019). Gestational diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 5(1), 47. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0098-8>
7. Modzelewski, R., Stefanowicz-Rutkowska, M. M., Matuszewski, W., & Bandurska-Stankiewicz, E. M. (2022). Gestational Diabetes Mellitus—Recent Literature Review. *Journal of Clinical Medicine*, 11(19), 5736. <https://doi.org/10.3390/jcm11195736>
8. Souza, C. M., & Iser, B. P. M. (2022). Gestational diabetes mellitus according to different diagnostic criteria: Prevalence and related factors. *Midwifery*, 113. <https://doi.org/10.1016/j.midw.2022.103428>
9. Martín-Estal, I., & Castorena-Torres, F. (2022). Gestational Diabetes Mellitus and Energy-Dense Diet: What Is the Role of the Insulin/IGF Axis? In *Frontiers in Endocrinology* (Vol. 13). <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.916042>
10. Fuselier, A., Hanberry, J., Margaret Lovin, J., & Gomelsky, A. (2018). Obesity and Stress Urinary Incontinence: Impact on Pathophysiology and Treatment. In *Current Urology Reports* (Vol. 19, Issue 1). <https://doi.org/10.1007/s11934-018-0762-7>
11. Doumouchtsis, S., Loganathan, J., & Pergialiotis, V. (2022). The role of obesity on urinary incontinence and anal incontinence in women: a review. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 129(1), 162–170. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.16848>
12. Batmani, S., Jalali, R., Mohammadi, M., & Bokaei, S. (2021). Prevalence and

- factors related to urinary incontinence in older adults women worldwide: a comprehensive systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMC Geriatrics*, 21(1), 212. <https://doi.org/10.1186/s12877-021-02135-8>
13. Marini, G., Piculo, F., Vesentini, G., Damasceno, D. C., Delella, F. K., Calderon, I. M. P., Daneshgari, F., Felisbino, S. L., Barbosa, A. M. P., & Rudge, M. V. C. (2018). The influence of hyperglycemia on the remodeling of urethral connective tissue in pregnant rats. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 221, 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2017.12.032>
 14. Rudge, M. V. C., Souza, F. P., Abbade, J. F., Hallur, R. L. S., Marcondes, J. P. C., Piculo, F., Marini, G., Vesentini, G., Thabane, L., Witkin, S. S., Calderon, I. M. P., Barbosa, A. M. P., Rudge, M. V., Barbosa, A. M. P., Calderon, I. M. P., Souza, F. P., Abbade, J. F., Hallur, L. S. R., Piculo, F., ... Nunes, H. R. C. (2020). Study protocol to investigate biomolecular muscle profile as predictors of long-term urinary incontinence in women with gestational diabetes mellitus. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 20(1), 117. <https://doi.org/10.1186/s12884-020-2749-x>
 15. Stallings, V. A., Harrison, M., & Oria, M. (Eds.). (2019). *Dietary Reference Intakes for Sodium and Potassium*. National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/25353>
 16. Elvebakk, T., Mostad, I. L., Mørkved, S., Salvesen, K., & Stafne, S. N. (2018). Dietary intakes and dietary quality during pregnancy in women with and without gestational diabetes mellitus—a norwegian longitudinal study. *Nutrients*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/nu10111811>
 17. Rasmussen, L., Poulsen, C. W., Kampmann, U., Smedegaard, S. B., Ovesen, P. G., & Fuglsang, J. (2020). Diet and Healthy Lifestyle in the Management of Gestational Diabetes Mellitus. *Nutrients*, 12(10), 3050. <https://doi.org/10.3390/nu12103050>
 18. Bauer, S. R., Kenfield, S. A., Sorensen, M., Subak, L. L., Phelan, S., Gupta, L. R., Chen, B., Suskind, A. M., Park, A. J., Iglesia, C., Gass, M., Hohensee, C., & Breyer, B. N. (2021). Physical Activity, Diet, and Incident Urinary Incontinence in Postmenopausal Women: Women's Health Initiative Observational Study. *The Journals of Gerontology: Series A*, 76(9), 1600–1607. <https://doi.org/10.1093/gerona/glab118>
 19. Zhang, S., Bian, H., Qiu, S., Cai, B., Jin, K., Zheng, X., Li, J., Tu, X., Ai, J., Yang, L., & Wei, Q. (2021). Associations between the dietary inflammatory index and urinary incontinence among women younger than 65 years. *Scientific Reports*, 11(1), 9340. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88833-0>
 20. Dallosso, H., Matthews, R., McGrother, C., & Donaldson, M. (2004). Diet as a risk factor for the development of stress urinary incontinence: a longitudinal study in women. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58(6), 920–926. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601913>
 21. Simpson, J. L., Bailey, L. B., Pietrzik, K., Shane, B., & Holzgreve, W. (2010). Micronutrients and women of reproductive potential: required dietary intake and consequences of dietary deficiency or excess. Part I – Folate, Vitamin B12, Vitamin B6. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 23(12), 1323–1343. <https://doi.org/10.3109/14767051003678234>
 22. Hebert, J. F., & Myatt, L. (2021). Placental mitochondrial dysfunction with metabolic diseases: Therapeutic approaches. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1867(1), 165967.

- <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165967>
23. Mangir, N., Bullock, A. J., Roman, S., Osman, N., Chapple, C., & MacNeil, S. (2016). Production of ascorbic acid releasing biomaterials for pelvic floor repair. *Acta Biomaterialia*, 29, 188–197.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.10.019>
24. Monaco, C. M. F., Perry, C. G. R., & Hawke, T. J. (2017). Diabetic Myopathy: current molecular understanding of this novel neuromuscular disorder. *Current Opinion in Neurology*, 30(5), 545–552.
<https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000479>

Seção 3

Resumos Expandidos

Resumo da Tese

Costa, S. M. B. Níveis de Nutrientes e da Expressão de Seus Receptores em Mulheres com Diabetes Mellitus Gestacional e Incontinência Urinária Específica da Gestação. 2023. Defesa para obtenção de título (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil.

Introdução: Durante o período gestacional, o corpo da gestante sofre diversas adaptações endócrinas e metabólicas, desde alterações na sensibilidade à insulina até alterações nos níveis circulantes do hormônio lactogênio placentário e colesterol, à medida que a placenta está em desenvolvimento. O Diabetes *Mellitus* Gestacional (DMG) é caracterizado por qualquer grau de intolerância a glicose, hiperglicemia e diagnosticado pela primeira vez durante a gestação. Nosso grupo de pesquisa “Diabetes e Gravidez - Clínico e Experimental” (CNPq - Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP) vem estudando, desde 2006, a relação da Incontinência Urinária (IU) associado com o DMG, entretanto esse quadro clínico junto ao estado nutricional materno, papel dos macronutrientes e micronutrientes dietéticos, exames bioquímicos e da expressão de seus receptores em gestantes com DMG e Incontinência Urinária Específica da Gestação (IU-EG) ainda não está elucidado. O estado nutricional materno adequado é essencial para o desenvolvimento fetal e a ingestão de vitaminas e minerais em quantidades adequadas, de acordo com as DRIs, proporciona à mulher uma gestação saudável, uma vez que as alterações metabólicas como a hiperglicemia levam a alterações na absorção, metabolismo, excreção e biodisponibilidade de nutrientes. A identificação precoce de deficiências nutricionais deve ser aprimorada, pois os estudos são limitados em relação às várias idades gestacionais e paridade. A falta de micronutrientes leva à redução da fertilidade materna, alterações no peso corporal do recém-nascido e resistência insulínica na vida adulta do recém-nascido como descrito na literatura. Além disso, hábitos alimentares errôneos, falha na absorção intestinal, tabagismo e adaptações maternas gestacionais (cardiovasculares, gastrointestinais e renais) afetam ainda mais as deficiências nutricionais maternas. A deficiência de vitamina A é um problema de saúde pública durante o terceiro trimestre de gestação, e seu excesso está associado a defeitos congênitos. Além disso, durante o período gestacional, 30,8% das gestantes no Brasil apresentam deficiência de vitamina C. As quantidades de nutrientes em gestantes com DMG e

IU-EG são pouco conhecidas, no momento apenas alguns estudos descreveram essa condição clínica. Além disso, o diagnóstico das deficiências de nutrientes deve ser melhorado, já que os estudos são limitados.

Justificativa: Desta forma, o impacto das adaptações hemodinâmicas, cardiovasculares, renais e gastrointestinais em relação aos níveis de nutrientes deve ser considerado durante a gestação. Idealmente, os estudos que investigam o efeito dos micronutrientes no DMG devem medir a ingestão alimentar e os níveis bioquímicos de micronutrientes. Assim, o conhecimento das possíveis alterações promovidas pelo DMG ao nível de nutrientes e da expressão de seus receptores específicos podem fornecer informações para a identificação de biomarcadores para a IU-EG, além de subsidiar a prática clínica com medidas terapêuticas e/ou preventivas por meio da alimentação adequada e/o suplementação nutricional, ampliando os estudos na área.

Objetivos: Artigo 1) Avaliamos os padrões de ingestão de alimentos da dieta maternos, medidas antropométricas e múltiplos marcadores bioquímicos em mulheres com DMG e IU-EG, e exploramos se o ambiente anterior ao DMG afeta o desenvolvimento da IU-EG em uma coorte de mulheres grávidas com DMG e IU-EG.

Artigo 2) Descrever as alterações da expressão gênica e expressão proteica dos receptores/canal (MTF1, RXRA, TRPM6 e TFRC) relacionados a nutrientes, e marcadores de estresse oxidativo (carbonilação de proteínas e peroxidação lipídica) em gestantes com DMG e IU-EG.

Métodos: Artigo 1) Este foi um estudo transversal do estudo de coorte “Diamater” realizado em 900 mulheres gestantes. O desenho do estudo incluiu três grupos controle, ou seja, não DMG continente (NG-C), não DMG incontinente (NG-IU) e DMG continente (DMG-C), e um grupo DMG incontinente (DMG-IU) como grupo estudo. As informações dietéticas maternas foram coletadas por um recordatório alimentar de 24-48 horas, uma ferramenta de avaliação da dieta na qual os participantes foram solicitados a recordar todos os alimentos e bebidas que consumiram nas últimas 24 horas e 48 horas (inquérito alimentar). As medidas antropométricas incluíram as circunferências do braço, pulso, cintura, quadril e muscular do braço, e dobra cutânea do tríceps. Às 24 semanas de gestação, com uma amostra de punção venosa em jejum, amostras de sangue atuais para marcadores bioquímicos de hormônios, vitaminas e minerais foram analisadas. O

DMG foi diagnosticado por um teste oral de tolerância à glicose a 75g em 24 semanas de gestação, e o “International Consultation on Incontinence Questionnaire - Short Form” (ICIQ-SF) para IU. Urogenital Distress Inventory-Short Form e Incontinence Severity Index (ISI-short form) foram aplicados. Questionários baseados em sintomas de acordo com a International Continence Society foram usados para detectar se o vazamento involuntário de urina começou durante a gravidez para caracterizar IU-EG. Os grupos foram comparados em termos de variáveis numéricas usando ANOVA para amostras independentes seguidas de comparações múltiplas com pós-teste de Bonferroni. Para variáveis categóricas, os grupos foram comparados por meio dos testes qui-quadrado ou exato de Fisher. A análise foi realizada com o software SPSS 21.

Artigo 2) Análise da expressão gênica pelo PCR em tempo real (qPCR) dos genes FPGS, MTF1, RXRA, TRPM6, TRAP1 e TFRC e análise da expressão proteica pelo Western Blot dos genes MTF1, RXRA, TRPM6 e TFRC. Os marcadores de estresse oxidativo foram feitos por carbonilação de proteínas e pelos níveis de malondialdeído, utilizando o soro das pacientes gestantes.

Resultados: Artigo 1) Das 900 mulheres gestantes com dados completos, 334 desenvolveram DMG (critérios IADPSG, OGTT 24-28 semanas). As gestantes do grupo DMG-IU apresentaram maior peso pré-gestacional, ganho de peso durante a gravidez, IMC durante a gravidez, circunferência do braço, circunferência da cintura, circunferência muscular do braço e dobra cutânea tricipital do que os grupos NG-C e NG-IU, caracterizando um ambiente materno obesogênico. Em relação à ingestão de alimentos dietéticos, foi observado um aumento significativo de aminoácidos aromáticos, aminoácidos ramificados, cromo, fibra alimentar, magnésio e zinco no grupo DMG-IU em comparação com o grupo NG-C. Houve uma diminuição significativa de cálcio, gorduras poliinsaturadas e gorduras saturadas no grupo DMG-IU em comparação com o grupo NG-IU. A vitamina C sérica foi reduzida no grupo DMG-IU em comparação com o grupo NG-IU. Os níveis de insulina foram maiores no grupo DMG-IU em comparação com o grupo NG-IU. Nos níveis hormonais maternos, o hormônio lactogênio placentário foi menor no grupo DMG-IU em comparação com o grupo NG-C.

Artigo 2) Um aumento significativo de magnésio, vitamina D e zinco dietético foi observado no DMG-IU em comparação com o grupo controle NG-C. As expressões dos genes RXRA e TRFC foram diminuídas no grupo DMG-IU em comparação com

o grupo DMG-C. Não foram encontradas diferenças significativas na expressão gênica de FPGS, MTF1, TRAP1 e TRPM6 em relação ao grupo do estudo e aos demais grupos controle. Além disso, a expressão proteica de TRFC foi diminuída no grupo DMG-IU em comparação com o grupo DMG-C. Não foram encontradas diferenças significativas na expressão proteica de MTF1, RXRA e TRPM6 e os marcadores de estresse oxidativo em relação ao grupo estudo em comparação aos grupos controle.

Conclusão: Artigo 1) Este estudo enfatiza a necessidade de uma estratégia abrangente para mulheres DMG com IU-EG em termos de desvio na adaptação materna tendendo à obesidade e deficiências maternas de micronutrientes. Adaptações maternas que tendiam para a obesidade, com ingestão de alimentos dietéticos demonstram uma deficiência materna múltipla de micronutrientes, e aumento significativo de aminoácidos aromáticos, aminoácidos ramificados, cromo, fibra dietética, magnésio e zinco, e diminuição de cálcio, gorduras poliinsaturadas e saturadas gorduras. Houve também níveis hiperinsulinêmicos e níveis mais baixos de hormônio lactogênio associados a baixos níveis de vitamina C. Este estudo também ressalta a necessidade de focar em fatores modificáveis pré-gravidez como uma oportunidade para a prevenção do DMG, aumentando a ingestão de frutas e vegetais folhosos verde-escuros para benefício em mulheres com DMG e IU-EG.

Artigo 2: Compreender os processos celulares que regulam a homeostase do ferro, como o TRFC, é essencial para buscar novos tratamentos para doenças como o DMG. Além disso, o achado quanto à expressão do TRFC em gestantes com DMG e IU-EG pode ser utilizado como ferramenta para intervenção nutricional e/ou farmacológica nessa população de gestantes. Assim, a prática da nutrigenômica auxiliará no tratamento de doenças não transmissíveis como o DMG, sendo o futuro da nutrição individualizada para melhor atender os pacientes em suas necessidades e utilizar a terapêutica adequada.

Palavras-chave: Diabetes Gestacional; Incontinência Urinária; Minerais; Vitaminas; Expressão Gênica; Estresse Oxidativo.

Thesis Abstract

Costa, S. M. B. Nutrient Levels and Their Receptor Expression in Women with Gestational Diabetes Mellitus and Pregnancy-Specific Urinary Incontinence. 2023. Doctorate - Botucatu Medical School (FMB), São Paulo State University (UNESP), Brazil.

Introduction: During the gestational period, the pregnant body undergoes various endocrine and metabolic adaptations, from changes in insulin sensitivity to changes in the circulating levels of placental lactogenic hormone and cholesterol, as the placenta develops. Gestational Diabetes Mellitus (GDM) is characterized by any degree of intolerance to glucose, and hyperglycemia and is diagnosed for the first time during pregnancy. Our research group "Diabetes and Pregnancy - Clinical and Experimental" (CNPq – Botucatu Medical School - UNESP) has been studying, since 2006, the relationship of Urinary Incontinence (UI) associated with GDM, meanwhile this clinical together with state maternal nutrition, the role of dietary macronutrients and micronutrients, biochemical tests and the expression of their receptors in pregnant women with GDM and Specific Urinary Incontinence of Gestation (PSUI) is still not elucidated. Adequate maternal nutritional status is essential for fetal development and the intake of vitamins and minerals in adequate amounts, according to the DRIs, provides women with a healthy pregnancy, since metabolic changes such as hyperglycemia lead to changes in absorption, metabolism, excretion and bioavailability of nutrients. Early identification of nutritional deficiencies should be improved, as studies are limited to different gestational ages and parity. The lack of micronutrients leads to reduced maternal fertility, changes in the newborn's body weight, and insulin resistance in the newborn's adult life, as described in the literature. In addition, erroneous eating habits, failure in intestinal absorption, smoking, and maternal gestational adaptations (cardiovascular, gastrointestinal, and renal) further affect maternal nutritional deficiencies. Vitamin A deficiency is a public health problem during the third trimester of pregnancy, and its excess is associated with birth defects. In addition, during the gestational period, 30.8% of pregnant women in Brazil have vitamin C deficiency. The amounts of nutrients in pregnant women with GDM and PSUI are little known, at the moment only a few studies have described this clinical condition. Furthermore, the diagnosis of nutrient deficiencies should be improved, as studies are limited.

Justification: Thus, the impact of hemodynamic, cardiovascular, renal, and

gastrointestinal adaptations about nutrient levels should be considered during pregnancy. Ideally, studies investigating the effect of micronutrients on GDM should measure dietary intake and biochemical levels of micronutrients. Thus, knowledge of the possible alterations promoted by GDM in terms of nutrients and the expression of its specific receptors can provide information for the identification of biomarkers for PSUI, in addition to subsidizing clinical practice with therapeutic and/or preventive measures through adequate food and/or nutritional supplementation, expanding studies in the area.

Aims: 1) We assessed maternal dietary food intake patterns, anthropometric measures, and multiple biochemical markers in GDM women with PSUI and we explored whether antedating GDM environment affects the PSUI development in a cohort of pregnant women with GDM and PSUI.

2) Describe changes in gene expression and protein expression of receptors/channels (MTF1, RXRA, TRPM6, and TFRC) related to nutrients, and markers of oxidative stress (protein carbonylation and lipid peroxidation) in pregnant women with GDM and PSUI.

Methods: 1) This was a cross-sectional study of the “Diamater” cohort study conducted on 900 pregnant women. The study design included three control groups, i.e. non-GDM continent (non-GDM-C), non-GDM incontinent (non-GDM-PSUI) and GDM continent (GDM-C), and a GDM incontinent group (GDM-PSUI) as group study. Anthropometric measurements included arm, wrist, waist, hip, and arm muscle circumferences, and triceps skinfolds. At 24 weeks of gestation, with a fasting venipuncture sample, current blood samples for biochemical markers of hormones, vitamins, and minerals were analyzed. GDM was diagnosed by an oral glucose tolerance test at 75g at 24 weeks of gestation, and the “International Consultation on Incontinence Questionnaire - Short Form” (ICIQ-SF) for UI. Urogenital Distress Inventory-Short Form and Incontinence Severity Index (ISI-short form) were applied. Symptom-based questionnaires according to International Continence Society were used to detect if the involuntary leakage of urine started during pregnancy to characterize PSUI. The groups were compared in terms of numerical variables using ANOVA for independent samples followed by multiple comparisons with Bonferroni correction. For categorical variables, the groups were compared using Chi-square or Fisher's exact tests. Analysis was performed with SPSS 21 software.

2) Analysis of gene expression by real-time PCR (q-PCR) of FPGS, MTF1, RXRA, TRPM6, TRAP1, and TFRC genes and analysis of protein expression by the Western Blot of genes MTF1, RXRA, TRPM6, and TFRC. Oxidative stress markers were made by protein carbonylation and malondialdehyde levels using patients' serum.

Results: 1) Of the 900 pregnant women with complete data, 334 developed GDM (IADPSG criteria, OGTT 24-28 weeks). Pregnant women in the GDM-PSUI group had higher pre-gestational weight, weight gain during pregnancy, BMI during pregnancy, arm circumference, waist circumference, arm muscle circumference, and triceps skinfold than the non-GDM-C and non-GDM-PSUI groups, characterizing an obesogenic maternal environment. Regarding dietary food intake, a significant increase in aromatic amino acids, branched amino acids, chromium, dietary fiber, magnesium, and zinc was observed in GDM-PSUI group compared to the non-GDM-C group. There was a significant decrease in calcium, polyunsaturated fats, and saturated fats in the GDM-PSUI group compared to the non-GDM-PSUI group. Serum vitamin C was reduced in the GDM-PSUI group compared to the non-GDM-PSUI group. The insulin levels were higher in GDM-PSUI group compared to the non-GDM-PSUI group. In maternal hormone levels, the placental lactogen hormone was lower in the GDM-PSUI group compared to the non-GDM-C group.

2) A significant increase in magnesium, vitamin D and zinc dietary was observed in the GDM-PSUI compared to the non-GDM-C control group. RXRA and TRFC gene expressions were decreased in the GDM-PSUI group compared to the GDM-C group. No significant differences were found in the gene expression of FPGS, MTF1, TRAP1 and TRPM6 in relation to the study group and the other control groups. Furthermore, TRFC protein expression was decreased in the GDM-PSUI group compared to the GDM-C group. No significant differences were found in the protein expression of MTF1, RXRA, and TRPM6, and oxidative stress markers in relation to the study group compared to the control groups.

Conclusion: 1) This study emphasizes the necessity for a comprehensive strategy for GDM women with PSUI in terms of deviation in maternal adaptation trending toward to obesity and maternal micronutrient deficiencies. In this cohort of women at GDM diagnosis, the maternal environment in GDM women with PSUI demonstrated deviation in maternal adaptations which were trending toward obesity, with dietary food intake demonstrate a multiple maternal micronutrient deficiencies

significant increase in aromatic amino acids, branched amino acids, chromium, dietary fiber, magnesium, and zinc and decrease in decrease in calcium, polyunsaturated fats, and saturated fats. There were also hyperinsulinemic levels and lower levels of lactogen hormone associated with low levels of vitamin C. This study also underscores the need to focus on modifiable factors pre-pregnancy as an opportunity for GDM prevention, increasing dietary intake of fruits and dark green leafy vegetables as beneficial in women with GDM and PSUI.

2) To understand the cellular processes that regulate iron homeostasis, such as TRFC, is essential to seek new treatments for diseases such as GDM. In addition, the finding regarding the expression of TRFC in pregnant women with GDM-PSUI can be used as a tool for nutritional and/or pharmacological intervention in this population of pregnant women. Thus, the practice of nutrigenomics will help in the treatment of non-communicable diseases such as GDM, being the future of individualized nutrition to better serve patients in their needs and use the appropriate therapy.

Keywords: Gestational Diabetes; Urinary incontinence; Minerals; Vitamins; Gene expression; Oxidative stress.

Seção 5

Perspectivas Acadêmicas e Científicas

Perspectivas em curto prazo

A publicação dos dois artigos da tese de Doutorado e a continuação das publicações na área de nutrição e medicina, a fim de contribuir para a pesquisa científica do Brasil. A divulgação da pesquisa a outros pesquisadores com o intuito de propagação da ciência e do conhecimento.

Perspectivas em médio prazo

Dar continuidade a pesquisa clínica iniciada na enfermaria da maternidade do HC por meio de um projeto de pós-doutorado para orientar as gestantes seja por meio da alimentação e/ou suplementação alimentar.

Perspectivas em longo prazo

Lecionar na disciplina de nutrição materno-infantil ou outra disciplina relacionada à área da saúde, e o atendimento a pacientes gestantes e não gestantes em consultório, bem como a construção de guidelines para a população de gestantes.