

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
BACHARELADO EM BIOMEDICINA

JÚLIA OLIVEIRA NEGROMONTE DUARTE

**EXPRESSÃO DE MARCADORES DE MACRÓFAGOS NA DECÍDUA DE
GESTANTES OBESAS**

JOÃO PESSOA - PB
2025

JÚLIA OLIVEIRA NEGROMONTE DUARTE

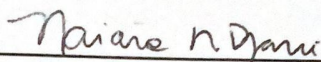
**EXPRESSÃO DE MARCADORES DE MACRÓFAGOS NA DECÍDUA DE
GESTANTES OBESAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Universidade Federal da Paraíba (UFPB),
como parte das exigências para obtenção do
título de bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Profa. Dra. Naiara Naiana Dejani

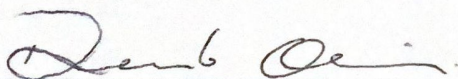
Aprovado em: 23/04/2025

BANCA EXAMINADORA



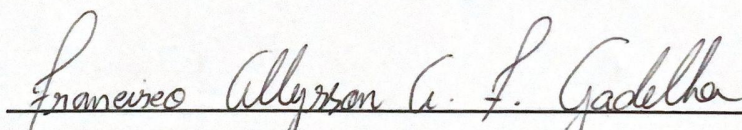
Naiara Naiana Dejani (Orientadora)

Departamento de Ciências Biomédicas - Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Renato Antonio dos Santos Oliveira

Departamento de Ciências Biomédicas - Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Francisco Allyson Assis Ferreira Gadelha

Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (Ipefarm) - Universidade
Federal da Paraíba (UFPB)

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

D812e Duarte, Júlia Oliveira Negromonte.

Expressão de marcadores de macrófagos na decídua de gestantes obesas / Júlia Oliveira Negromonte Duarte. - João Pessoa, 2025.
58 f. : il.

Orientação : Naiara Naiana Dejani.
TCC (Graduação) - UFPB/CCS.

1. Macrófagos. 2. Polarização M1/M2. 3. Decídua. 4. Inflamação. 5. Obesidade gestacional. I. Dejani, Naiara Naiana. II. Título.

UFPB/CCS

CDU 612.017

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer à versão mais jovem de mim que pouco sabia sobre o curso de Biomedicina e resolveu se arriscar, sem imaginar que se encontraria tanto nessa área tão fascinante e admirável, e que não desistiu diante de qualquer dificuldade. Gostaria de agradecer também aos meus pais e minha família, por sempre apoiarem minhas escolhas e sonhos e me incentivarem a crescer e conquistar cada vez mais. É imprescindível também agradecer à minha orientadora Profa. Dra. Naiara Naiana Dejana, por me ensinar tanto e por me guiar nessa jornada da melhor forma possível, se fazendo presente na graduação, na pesquisa e no trabalho de conclusão de curso, sendo sempre uma inspiração de pessoa, profissional e professora.

Esse trabalho é fruto de uma pesquisa muito gratificante e que me ensinou muito sobre biologia molecular, imunologia e embriologia. Por isso, não poderia deixar de agradecer aos participantes dessa equipe, à Érika, Maria Júlia e Rayssa, por toda dedicação, esforço e pelos bons momentos vividos juntas que tornaram essa jornada ainda mais especial. Agradeço também à equipe do Laboratório de Biologia Molecular (Labimol), em especial Fabrine e Sandrelli por todo o apoio, cuidado e dedicação, como também à equipe do Laboratório de Imunofarmacologia (Limfa) por todos os conselhos e ensinamentos, que com toda certeza foram de grande importância para meu crescimento acadêmico.

Por fim, gostaria de agradecer aos meus amigos e colegas de turma, em especial Ana e Thaís, que foram essenciais para tornar esse processo mais leve, que sempre estiveram comigo nos momentos mais importantes, me apoiaram e me ajudaram com tanto, sem vocês a graduação não teria sido a mesma, com toda certeza são pessoas que levarei pra vida.

RESUMO

A placenta é o órgão fundamental da gravidez, responsável pela formação do ambiente em que há troca de substâncias entre a mãe e o feto, sendo importante que sua fisiologia esteja altamente regulada. A obesidade é uma doença multifatorial, caracterizada pelo acúmulo de tecido adiposo ao longo dos diversos compartimentos corpóreos, contribuindo para a resistência à insulina e alterações metabólicas que desequilibram a homeostase. O excesso de gordura na gestação, o qual se localiza predominantemente nas vísceras, eleva o risco de diabetes e hipertensão gestacional, aumento do tempo de concepção, pré-eclâmpsia, parto prematuro, problemas cardiovasculares na mãe, elevado peso ao nascer e IMC alto na adolescência. Os macrófagos são células do sistema imune inato que atuam na defesa contra patógenos, remodelação tecidual e apresentação de antígenos aos linfócitos T. Sua ativação varia conforme o microambiente, assumindo perfis inflamatórios (M1) ou anti-inflamatórios (M2), evidenciando sua plasticidade funcional. Ainda, a obesidade também afeta a composição celular e o microambiente do tecido adiposo, no qual em pessoas obesas os macrófagos aumentam em número e mudam seu perfil de ativação de M2, anti-inflamatórios, para M1, pró-inflamatórios. Essa mudança também pode ser vista de forma semelhante na composição celular placentária. Assim, este trabalho investiga como a obesidade materna pode afetar o ambiente imunológico da placenta, especialmente na decídua, que é a porção materna deste órgão. A pesquisa focou na expressão de genes marcadores de macrófagos (CD206, CD163 e HLA-DRB1), que indicam os perfis M2 (anti-inflamatório) e M1 (pró-inflamatório). Foram comparadas 40 amostras de decídua de gestantes obesas e eutróficas, analisando-se os dados de expressão gênica por qPCR e correlacionando-os com dados antropométricos das participantes. Os resultados indicaram uma redução na expressão dos marcadores M2 em gestantes obesas, sugerindo uma alteração no perfil imunológico da placenta associada ao estado inflamatório crônico da obesidade. Estes achados apontam para possíveis impactos negativos na saúde materno-fetal e reforçam a necessidade de mais estudos sobre os efeitos da obesidade na gravidez.

Palavras-chave: macrófagos, polarização M1/M2, decídua, inflamação, obesidade gestacional.

ABSTRACT

The placenta is the fundamental organ of pregnancy, responsible for creating the environment in which the exchange of substances between the mother and the fetus takes place, making its physiological regulation critically important. Obesity is a multifactorial disease characterized by the accumulation of adipose tissue throughout various body compartments, contributing to insulin resistance and metabolic changes that disrupt homeostasis. Excess visceral fat during pregnancy increases the risk of gestational diabetes and hypertension, prolonged time to conception, pre-eclampsia, preterm birth, cardiovascular issues in the mother, high birth weight, and elevated BMI in adolescence. Macrophages are cells of the innate immune system that defend against pathogens, assist in tissue remodeling, and present antigens to T lymphocytes. Their activation varies according to the microenvironment, assuming inflammatory (M1) or anti-inflammatory (M2) profiles, reflecting their functional plasticity. Moreover, obesity affects the cellular composition and microenvironment of adipose tissue, in which macrophages increase in number and shift from an M2 (anti-inflammatory) to an M1 (pro-inflammatory) phenotype. A similar shift can be observed in placental cellular composition. Thus, this study investigates how maternal obesity may affect the immune environment of the placenta, particularly in the decidua, the maternal portion of this organ. The research focused on the expression of macrophage marker genes (CD206, CD163, and HLA-DRB1), which indicate M2 (anti-inflammatory) and M1 (pro-inflammatory) profiles. Forty decidual samples from obese and eutrophic pregnant women were compared by analyzing gene expression data through qPCR and correlating the results with the participants' anthropometric data. The results showed reduced expression of M2 markers in obese women, suggesting a shift in the placental immune profile associated with the chronic inflammatory state of obesity. These findings indicate potential negative impacts on maternal-fetal health and reinforce the need for further research on the effects of obesity during pregnancy.

Keywords: macrophages, M1/M2 polarization, decidua, inflammation, gestational obesity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estágios de desenvolvimento da placenta e membranas fetais. Decídua basal (BD); placenta (P); cavidade amniótica (AC); âmnio 'interno' (A); amnio intermediário (CL); cavidade uterina (UC); decídua capsular (CD); decídua parietal (PD)	15
Figura 2 - Ilustração de um corte transversal de placenta, apresentando suas estruturas internas.....	16
Figura 3 - Ilustração de uma vilosidade-tronco coriônica mostrando seu sistema venoso arteriocapilar (A); Seções de uma ramificação vilosa de uma gestação de 10 semanas (B) e uma a termo (C).....	18
Figura 4 - Percentual da prevalência de obesidade em adultos maiores de 18 anos no Brasil, de 2006 a 2023.....	19
Figura 5 - Esquema dos perfis de ativação M1 e M2 de macrófagos, seus principais estímulos, marcadores de superfície, citocinas produzidas e funções.....	24
Figura 6 - Esquema dos estados de ativação mais prevalentes de macrófagos M2 e os marcadores associados aos seus respectivos fenótipos.....	26
Figura 7 - Expressão do mRNA de CD206, CD163 e HLA-DRB1 relativa a β -actina e YWHAZ em gestantes eutróficas e obesas.....	40
Figura 8 - Correlação entre a expressão do mRNA dos genes CD206, CD163 e HLA-DRB1 e o IMC pré-gestacional.....	41
Figura 9 - Correlação entre a expressão do mRNA dos genes CD206, CD163 e HLA-DRB1 e o ganho de peso gestacional.....	42
Figura 10 - Gráfico apresentando a média e desvio padrão dos valores de Ct em duplicata dos genes de referência β -actina e YWHAZ.....	42
Figura 11 - Fluxograma representando um resumo do estudo e seus principais resultados.....	45

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Tabela 1 - Dados maternos e antropométricos dos grupos de gestantes eutróficas e obesas.....	35
Tabela 2 - Ganho de peso gestacional recomendado, de acordo com o IMC pré-gestacional.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IMC - índice de massa corporal

qPCR - Reação em cadeia da polimerase em tempo real

GLUT-1 - transportador de glicose

OMS - Organização Mundial da Saúde

DALY - *disability adjusted life years* (anos de vida perdidos ajustados por incapacidade)

Vigitel - Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

MetS - Síndrome Metabólica

TLRs - receptores *toll-like*

PCR - proteína C reativa

AGM - aorta-gônadas-mesonefro

CTH-LP - células-tronco hematopoéticas de longo prazo

EMP - progenitores mieloides e eritróides

CTH - células-tronco hematopoéticas

SNC - Sistema Nervoso Central

SPI-1 - proto-oncogene Spi-1

M-CSFR ou **CSF-1R** - receptor do fator estimulador de colônia de macrófagos

LPS - lipopolissacarídeo

NO - óxido nítrico

ROS - espécies reativas de oxigênio

MerTK - receptor tirosina quinase Mer

TAMs - macrófagos associados a tumores

VEGF - fator de crescimento endotelial vascular

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

SUS - Sistema Único de Saúde

EBSERH - Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares

HULW - Hospital Universitário Lauro Wanderley

Labimol - Laboratório de Biologia Molecular

CCM - Centro de Ciências Médicas

APCs - células apresentadoras de antígenos

GPG - ganho de peso gestacional

DP - desvio padrão

CYC1 - citocromo c-1

ATP5B - ATP sintase

YWHAZ - tirosina 3-monooxygenase

GAPDH - gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase

SOP - síndrome do ovário policístico

CONMAI - Consórcio Brasileiro de Nutrição Materno-infantil

MHC - Complexo principal de histocompatibilidade

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1	PLACENTA.....	15
2.1.1	Anatomia e fisiologia.....	15
2.1.2	Circulação materno-fetal.....	17
2.2	OBESIDADE GESTACIONAL.....	19
2.2.1	Dados e Fisiopatologia da Obesidade.....	19
2.2.2	Impactos na placenta e no feto/recém-nascido.....	22
2.3	MACRÓFAGOS.....	23
2.3.1	Origem e funções.....	23
2.3.2	Plasticidade funcional.....	25
2.3.3	Macrófagos placentários.....	28
3	OBJETIVOS.....	30
3.1	OBJETIVO GERAL.....	30
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
4	HIPÓTESE.....	31
5	METODOLOGIA.....	32
5.1	TIPO DE ESTUDO.....	32
5.2	ASPECTOS ÉTICOS.....	32
5.3	SELEÇÃO DAS PARTICIPANTES DO ESTUDO.....	32
5.4	COLETA DE DADOS E AMOSTRAS.....	33
5.5	AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA.....	33
5.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34

6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
7	CONCLUSÃO.....	46
	REFERÊNCIAS.....	47
	ANEXOS.....	54

1. INTRODUÇÃO

A placenta é o órgão fundamental da gravidez, responsável por fornecer o ambiente de troca de substâncias entre a mãe e o feto, necessário à sustentação e desenvolvimento do bebê, por isso sua fisiologia deve estar altamente regulada.

A obesidade é uma doença multifatorial, caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo ao longo dos diversos compartimentos corpóreos, causando alterações metabólicas por todos os sistemas. Assim, antes o ganho de peso aceitável em uma gravidez normal era de até 12 kg, entretanto, atualmente esse parâmetro é calculado a partir do IMC pré-gestacional, visto que as mães que estão com sobrepeso ou obesas antes da gravidez devem estar ainda mais atentas ao ganho de peso gestacional (Champion; Harper, 2020). Nesse sentido, o excesso de gordura na gestação, localizada predominantemente nas vísceras, eleva o risco de diabetes, hipertensão, pré-eclâmpsia, parto prematuro, problemas cardiovasculares, elevado peso ao nascer e alto IMC na infância ou adolescência (Santangeli; Sattar; Huda, 2015). Além disso, estudos apontaram que a porcentagem de crianças que necessitam de admissão na unidade de tratamento intensiva (UTI) neonatal é 3,5 vezes maior em mães que são obesas (Heslehurst *et al.*, 2007). Desse modo, é necessário uma atenção e cuidado quanto ao ganho de peso durante a gestação, tendo em vista os riscos a que a saúde da mãe e do concepto estão submetidos nessas condições.

A obesidade além de promover as consequências metabólicas citadas anteriormente, também afeta a composição celular e o microambiente tecidual. No tecido adiposo, dentre a população leucocitária predominam os macrófagos, em que no contexto da obesidade aumentam em número e mudam seu perfil de ativação de anti-inflamatórios, M2, para M1, pró-inflamatórios (Castoldi *et al.*, 2016). Essa mudança também pode ser vista de forma semelhante na composição celular placentária, que ocorre devido a uma maior exposição a um ambiente inflamatório, dislipidêmico, com estresse oxidativo e níveis hormonais alterados. Na placenta os macrófagos compõem cerca de 20% de todos os leucócitos, sendo importantes para o desenvolvimento da gestação devido a sua plasticidade funcional (Heikkinen *et al.*, 2003). Estudos com macrófagos da decídua em uma gravidez saudável apontam um perfil imunossupressor (M2), responsável pela imunotolerância entre as células T

maternas e as células fetais, por não fornecerem sinais de coestimulação suficientes necessários a sua ativação, além de aumentar a geração de citocinas anti-inflamatórias como IL-10 e TGF- β , inibir as pró-inflamatórias e promover a fagocitose de células apoptóticas (Heikkinen *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2017). Entretanto, em uma gravidez anormal, como em casos de aborto espontâneo, parto prematuro, pre-eclâmpsia, restrição do crescimento intra-uterino e infecções parasitárias intra-uterinas, são observados mais macrófagos de ativação clássica (M1) na interface materno-fetal (Zhang *et al.*, 2017). Assim, comprometendo processos fundamentais da gestação em que os macrófagos são essenciais, como a invasão trofoblástica, a fagocitose de células apoptóticas e o remodelamento das artérias espirais, responsáveis por nutrir a placenta (Yao; Xu; Jin, 2019).

Por isso, devido à prevalência de estudos e pesquisas dessa temática com macrófagos isolados da placenta, mais concentrados em amostras de vilo ou de sangue do cordão umbilical, este trabalho visou avaliar as mudanças que a alta adiposidade gestacional causam na expressão gênica de marcadores de macrófagos no tecido placentário, especificamente na porção materna, a decídua. Assim, ao relacionar os resultados obtidos aos dados antropométricos das gestantes, buscou-se gerar conhecimento para que haja avanços na área acerca dos mecanismos imunológicos placentários envolvidos nesse quadro inflamatório acentuado e suas consequências para o organismo materno.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

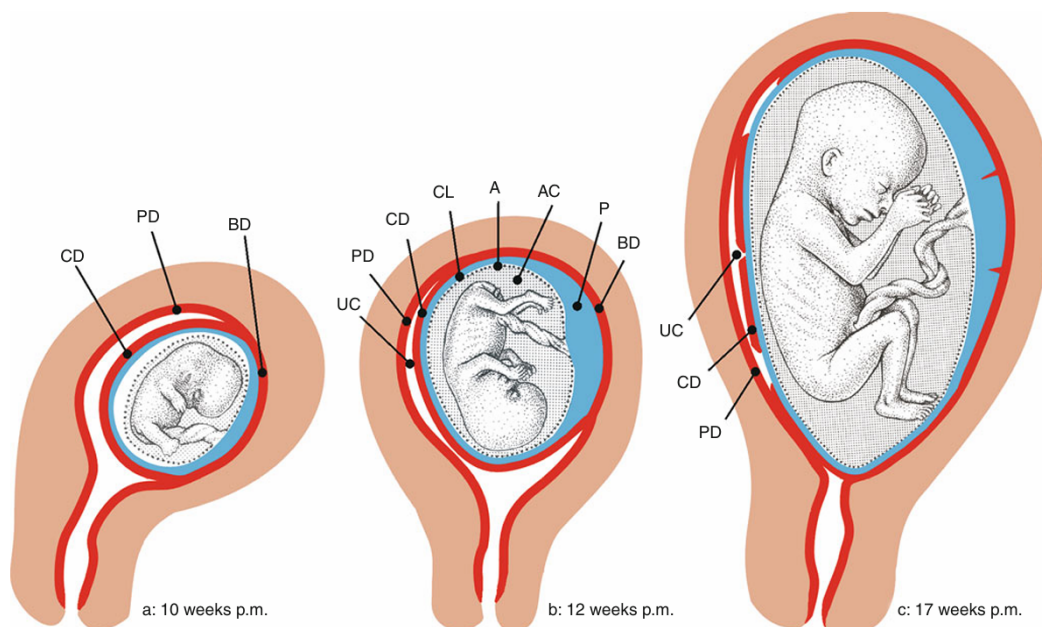
2.1 Placenta

2.1.1 Anatomia e fisiologia

A placenta é um órgão temporário, embora essencial para o desenvolvimento fetal no útero, sendo necessário seu adequado funcionamento para o transporte de nutrientes e oxigênio, assim como para a remoção de produtos do metabolismo. Apesar de ser um órgão majoritariamente fetal, possui uma grande porção conectada à parede uterina, representando a porção materna da placenta, composta por diversos cotilédones que, através dos vasos que os percorrem, são transportadas moléculas, nutrientes e oxigênio entre a circulação materna e a fetal (Acharya *et al.*, 2016). Por outro lado, a porção fetal da placenta, que se desenvolve a partir de parte do saco coriônico, e as membranas fetais cório, âmnio, vesícula umbilical e alantóide separam o embrião ou feto da camada interna do útero, o endométrio (Moore *et al.*, 2022). Assim, a placenta e o cordão umbilical formam um sistema de transporte de substâncias entre a mãe e o feto, desempenhando as funções de metabolismo, nutrição, proteção, excreção de resíduos e produção de hormônios, como o hCG (gonadotrofina coriônica humana).

A decídua é a porção endometrial funcional que é separada do restante do útero no momento do parto, sendo subdividida em 3 regiões, a basal, compondo a parte materna da placenta, a capsular, parte superficial que cobre o conceito, e a parietal, composta por porções remanescentes da decídua, observadas na figura 1 (Moore *et al.*, 2022; Benirschke, 2006). O desenvolvimento da placenta é caracterizado pela proliferação do trofoblasto e pelo desenvolvimento do saco coriônico e das vilosidades coriônicas (Moore *et al.*, 2022; Huppertz, 2008). Essas vilosidades cobrem todo o saco coriônico, e a medida que ele cresce, as vilosidades associadas à decídua capsular se degeneram, formando o cório liso, enquanto àquelas associadas a decídua basal aumentam de tamanho e se multiplicam, tornando-se mais profundas, formando o cório viloso (Moore *et al.*, 2022; Huppertz, 2008).

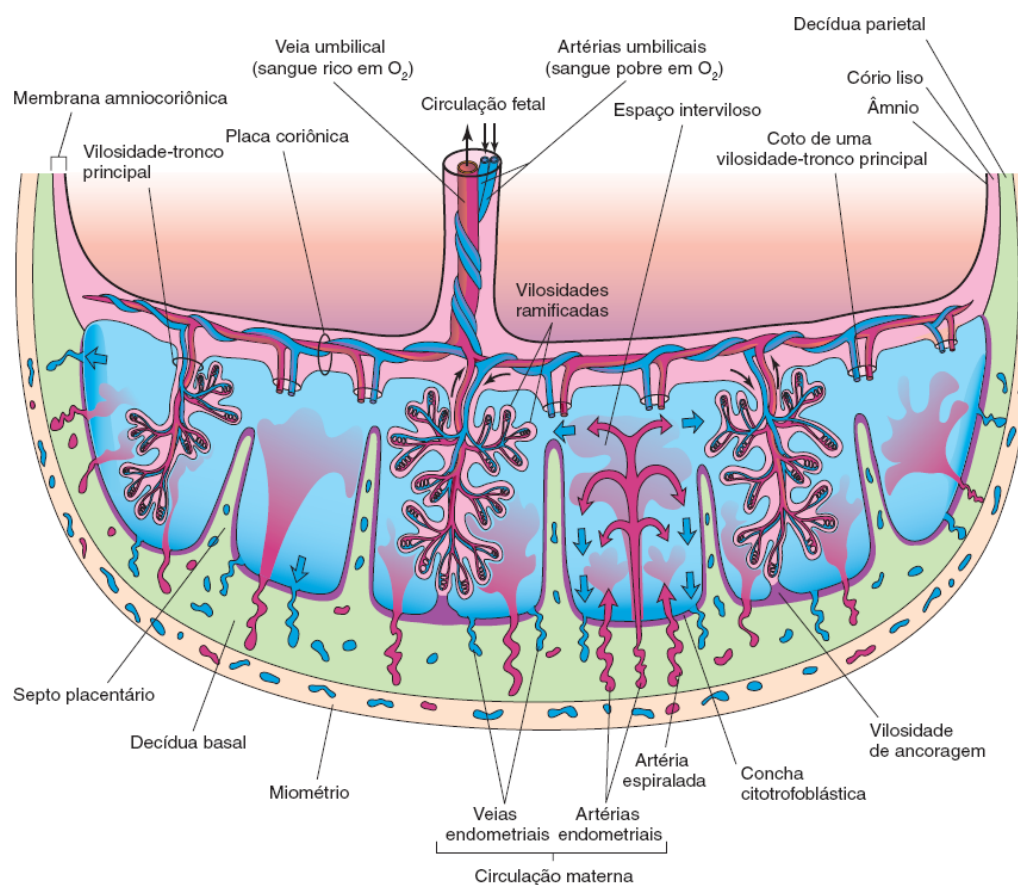
Figura 1 - Estágios de desenvolvimento da placenta e membranas fetais. Decídua basal (BD); placenta (P); cavidade amniótica (AC); âmnio 'interno' (A); amnio intermediário (CL); cavidade uterina (UC); decídua capsular (CD); decídua parietal (PD).



Fonte: Benirschke (2006).

Assim, a interface materno-fetal é composta pelo cório viloso, (parte fetal) e pela decídua basal (parte materna), que estão conectados pelas conchas citotrofoblásticas, nas quais possuem vilosidades que ancoram as duas regiões entre si, como apresentado na figura 2 (Moore *et al.*, 2022; Benirschke, 2006). As artérias e veias do endométrio atravessam aberturas presentes nas conchas citotrofoblásticas, alcançando o espaço intervilloso, descarregando sangue materno e drenando sangue fetal, respectivamente. Nesse espaço há também vilosidades-tronco e suas ramificações (figura 3-A), conjuntos de capilares derivados da placa coriônica, parte do cório associada à placenta, formando a rede vascular que percorre o cordão umbilical até o feto (Moore *et al.*, 2022). Essas vilosidades percorrem uma vasta área de superfície e estão sempre rodeadas e em contato com o sangue materno no espaço intervilloso, possibilitando a troca de gases e nutrientes necessários ao desenvolvimento fetal.

Figura 2 - Ilustração de um corte transversal de placenta, apresentando suas estruturas internas.



Fonte: Moore *et al.* (2022).

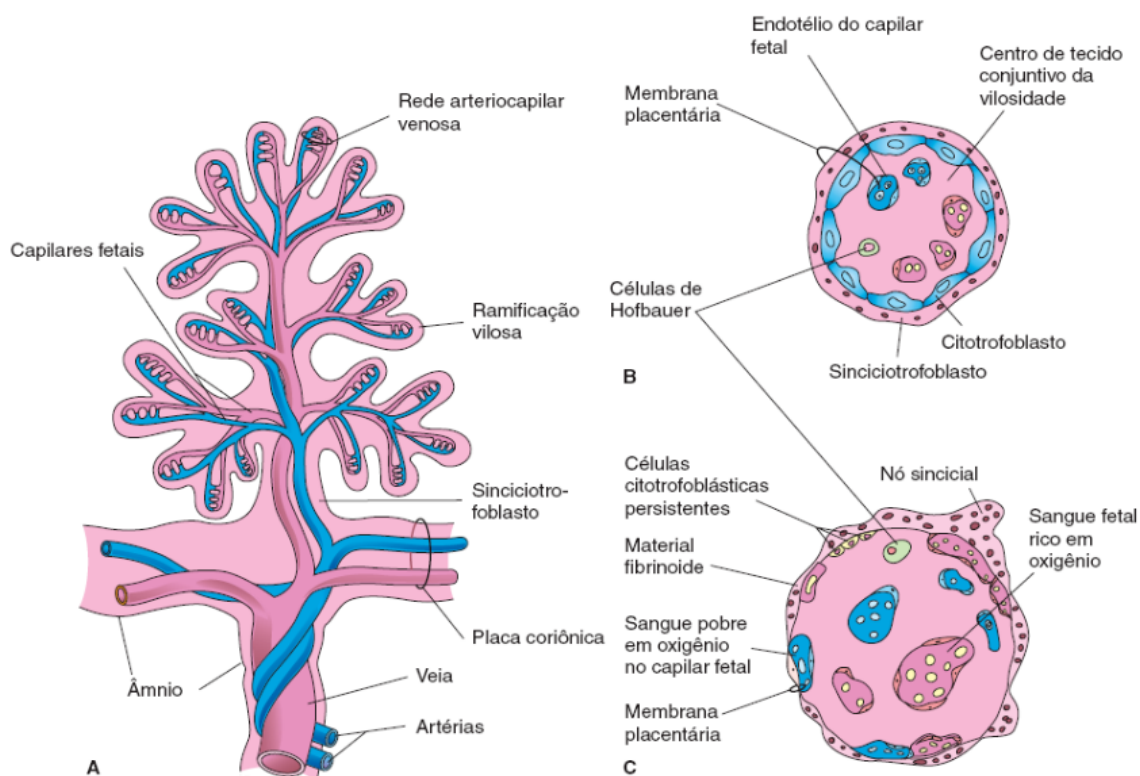
2.1.2 Circulação materno-fetal

A circulação sanguínea na placenta ocorre em dois espaços, a fetal e a uterina, não havendo, normalmente, mistura entre o sangue desses compartimentos (Acharya *et al.*, 2016). Durante a gravidez, a porção fetal é continuamente desenvolvida, tanto em estrutura quanto em função, à medida que as vilosidades trofoblásticas amadurecem, já a vascularização da porção uterina está completa após 20 a 22 semanas de gestação (Acharya *et al.*, 2016). O sangue pouco oxigenado do feto chega através das artérias umbilicais, dividindo-se nas artérias coriônicas até ramificar-se ao longo da placa coriônica para adentrar as vilosidades, onde o sangue é oxigenado, depois, é drenado pelas veias que seguem as artérias coriônicas até convergirem na veia umbilical (Moore *et al.*, 2022). Por outro lado, o sangue materno chega ao espaço intervilloso através das artérias endometriais espiraladas da decídua basal, que jorra frente a placa coriônica, devido à grande pressão, permitindo a troca de substâncias, depois esse sangue retorna pelas veias

endometriais para a circulação materna (Moore *et al.*, 2022). Nesse sentido, alterações na hemodinâmica da circulação uteroplacentária podem causar redução da oxigenação, denominada hipóxia fetal, e consequente restrição do crescimento intrauterino.

A separação do sangue materno do sangue fetal é decorrente da presença de tecidos extra fetais que compõem a membrana placentária, constituída de 4 camadas até a 20ª semana, perdendo uma camada após essa marca, observado nas figuras 3-B e 3-C (Moore *et al.*, 2022). Assim, essa membrana permite a passagem somente de moléculas de determinado tamanho, estrutura e carga. Por isso, a maioria dos medicamentos e outras substâncias do organismo materno a atravessam e são encontradas no plasma fetal (O'Brien; Wang, 2023). Em geral, todos os materiais são transportados através da membrana placentária por um desses processos, sendo eles a pinocitose, a difusão simples, no caso da água e a maioria das drogas e seus metabólitos, por difusão facilitada, como a glicose através dos transportadores GLUT-1 ou por transporte ativo, como os aminoácidos (O'Brien; Wang, 2023). Ademais, hormônios protéicos como a insulina e os hipofisários não alcançam a circulação fetal em quantidades significativas, já hormônios esteróides não conjugados atravessam a membrana placentária com maior facilidade, assim como a testosterona e determinadas progestinas sintéticas (Moore *et al.*, 2022).

Figura 3 - Ilustração de uma vilosidade-tronco coriônica mostrando seu sistema venoso arteriocapilar (A); Seções de uma ramificação vilosa de uma gestação de 10 semanas (B) e uma a termo (C).



Fonte: Moore et al. (2022).

2.2 Obesidade gestacional

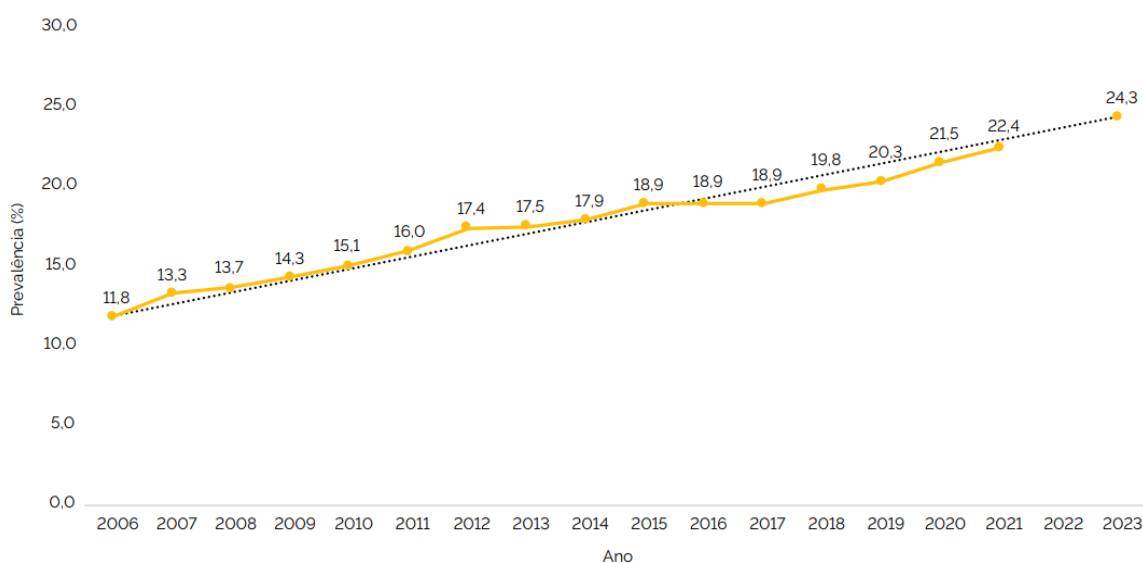
2.2.1 Dados e Fisiopatologia da Obesidade

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a obesidade é o excesso de gordura corporal em quantidades que causem prejuízos à saúde, utilizando o índice de massa corporal (IMC) como indicador, considerando obeso quando o IMC é igual ou maior a 30kg/m^2 (Brasil, 2023). É uma doença crônica multissistêmica, associada a um aumento de morbidade e mortalidade em todo o mundo, sendo, portanto, um problema de saúde pública enfrentado por países desenvolvidos e em desenvolvimento (Sarma; Sockalingam; Dash, 2020). A obesidade contribui com 4 milhões de mortes por ano e 120 milhões de DALY (*Disability adjusted life years* - anos de vida perdidos ajustados por incapacidade), além disso, quase 70% das mortes relacionadas a alto índice de massa corporal são devido a doenças

cardiovasculares, e mais de 60% dessas mortes ocorrendo entre obesos (Afshin *et al.*, 2017).

A obesidade é considerada uma doença de origem multifatorial, sendo estes fatores biológicos, sociais, culturais, comportamentais, políticos e de saúde pública (Brasil, 2023). Portanto, seu desenvolvimento se dá por meio de interações entre a genética do indivíduo e fatores como a ausência de prática de atividades físicas, consumo excessivo de alimentos ultraprocessados e gordurosos, sono inadequado, alterações endócrinas, ambiente intrauterino, uso de medicamentos obesogênicos, condições socioeconômicas, dentre outros (Brasil, 2023). Nesse contexto, diversos fatores influenciam a ocorrência da obesidade na população brasileira, sendo os grupos mais acometidos as mulheres, indivíduos com baixa escolaridade e de raça/cor preta (Brasil, 2024a). A Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel) realizou uma análise de 16 anos do percentual de obesidade autorreferida em adultos com mais de 18 anos no Brasil, passando de 11,8% em 2006 para 24,3% em 2023, representando um aumento percentual de aproximadamente 105,9% ao longo de todo o período analisado, conforme apresentado na figura 4 (Brasil, 2024a).

Figura 4 - Percentual da prevalência de obesidade em adultos maiores de 18 anos no Brasil, de 2006 a 2023.



Fonte: Brasil (2024a).

A obesidade é resultante de um desbalanço energético que leva ao ganho de peso e, por consequência, ao surgimento de diversos distúrbios metabólicos. O estresse e a disfunção tecidual, juntamente com a ativação de vias de sinalização inflamatórias manifestam-se clinicamente como Síndrome Metabólica (MetS), condição caracterizada pela presença de 3 ou mais dos seguintes parâmetros: adiposidade central, glicose alta, triglicerídeos no plasma, alta pressão arterial e baixos níveis do colesterol HDL (Andersen; Murphy; Fernandez, 2016). Além disso, resulta também na ativação do sistema imune nos tecidos adiposo, hepático, pancreático e vascular, juntamente com a presença de marcadores inflamatórios plasmáticos em níveis elevados (Andersen; Murphy; Fernandez, 2016). Nesse sentido, no sobrepeso e na obesidade há o estabelecimento de um microambiente inflamatório crônico, em que níveis acentuados de citocinas pró-inflamatórias geram um *loop* de feedback positivo em vias de receptores inflamatórios, como dos inflamassomas e dos *toll-like* (TLRs), além de prejudicar também a sensibilidade à insulina (Rodríguez-Hernández, 2013).

Além disso, na obesidade e na MetS também são observadas alterações na arquitetura e na integridade das populações leucocitárias, além de mudanças em seus fenótipos para um perfil inflamatório (Andersen; Murphy, Fernandez, 2016). Sendo assim, a principal fonte de citocinas inflamatórias na obesidade são os adipócitos e os macrófagos infiltrantes do tecido adiposo, que produzem principalmente IL-6, TNF- α e IL-1 β , sendo essa primeira produzida também por células endoteliais e linfócitos, estimulando o fígado a produzir proteínas de fase aguda, como a proteína C reativa (PCR), além de, juntamente com TNF- α , aumentar a lipogênese hepática (Gregar; Hotamisligil, 2011; Khanna, *et al.*, 2022). Nesse sentido, estudos mostraram que níveis elevados de PCR são observados em indivíduos com adiposidade abdominal, assim como também é característico em diversas doenças crônicas, que podem ser desencadeadas pela obesidade, como doenças cardiovasculares e diabetes (Lapice *et al.*, 2009; Rodríguez-Hernández, 2013). Portanto, é notório que o excesso de adiposidade interfere no balanço homeostático, corroborando para o estabelecimento do perfil inflamatório crônico característico da síndrome metabólica causada pela obesidade.

2.2.2 Impactos na placenta e no feto/recém-nascido

Segundo Johnson *et al.* (2015), quase metade das mulheres ganham mais peso do que o recomendado pelo Instituto de Medicina para o ganho de peso durante a gestação. Além disso, um estudo multiétnico realizado sugeriu que o aumento da adiposidade materna agora excede o fumo em fator de risco relacionado à estilo de vida como maior causador de adversidades na gravidez (Djelantik *et al.*, 2012). Desse modo, caracterizando um problema global que cada vez mais acomete esse grupo, com impactos negativos na saúde tanto dessas mães como de seus bebês.

Mediante o exposto, é notório que a placenta responde às mudanças que ocorrem no microambiente materno, sejam alterações no fluxo sanguíneo, na secreção de hormônios ou de moléculas sinalizadoras que influenciam no crescimento e composição fetal (Dimasuay *et al.*, 2016). A nutrição materna é um fator determinante na alteração da função placentária e no crescimento do feto, pois modula o transporte placentário de nutrientes (Dimasuay *et al.*, 2016). De acordo com a hipótese da “*Developmental Origin of Health and Disease*”, fatores externos podem causar adaptações epigenéticas no DNA fetal/neonatal e ao desenvolvimento, à longo prazo, de desordens metabólicas (Lacagnina, 2019). Sendo assim, estudos demonstraram relação entre um excessivo fornecimento nutricional ao feto/neonato e alto risco de obesidade no início da vida adulta (Kemp *et al.*, 2012).

Desse modo, alterações nutricionais da mãe causam uma reprogramação do tecido adiposo do feto, com aumento da adipogênese, lipogênese e inflamação (Lecoutre; Breton, 2015). Além disso, o estresse oxidativo, inflamação, lipotoxicidade, mudanças na composição do leite, mudanças epigenéticas no feto, alterações na função neural e no microbioma tem efeitos no desenvolvimento neural, contribuindo para o surgimento de desordens neuropsíquicas (Tong; Kalish, 2020). Portanto, o microambiente inflamatório materno caracterizado pela presença de TNF- α ou IL-6 em altas concentrações demonstram um aumento da gordura corporal, adiposidade e resistência a insulina na prole, como observado em estudos de Dahlgren *et al.* (2001). Além disso, a obesidade materna traz consigo diversas consequências para a mãe, como pré-eclâmpsia, diabetes gestacional, hipertensão,

complicações no parto e infecções, com evidências de consequências na criança, como síndromes metabólicas, efeitos cardiovasculares, imunodeficiências e distúrbios neuronais (Tong; Kalish, 2020). Assim, devido ao aumento da prevalência da obesidade na gravidez, são necessários avanços e pesquisas nessa área.

2.3 Macrófagos

2.3.1 Origem e Funções

Estudos realizados por Van Furth e Zanvil Cohn em 1968 demonstraram que monócitos do sangue periférico e macrófagos peritoneais não se multiplicam, em um estado normal, de equilíbrio, sendo apenas os progenitores medulares com capacidade de proliferação. Nesse sentido, perpetuou-se o modelo linear de que os promonócitos da medula óssea dão origem aos monócitos circulantes que, por sua vez, migram para os tecidos e se diferenciam em macrófagos. Assim, com a propagação desse pensamento, van Furth e estudiosos em uma conferência realizada nos Países Baixos, no ano de 1969, propuseram uma nova classificação para as células fagocíticas mononucleares, no qual os promonócitos e seus precursores medulares, monócitos do sangue periférico e macrófagos teciduais fazem parte, desde então, do Sistema Fagocitário Mononuclear (van Furth, 1972).

Entretanto, posteriormente, estudos realizados tanto em humanos como em camundongos, contradizem esse modelo linear de células não-divisíveis e totalmente diferenciadas, em que sua ontogenia é estritamente dependente de monócitos circulantes. Por exemplo, estudos de parabiose em camundongos mostraram que, após um ano, não houve fusão das populações de macrófagos teciduais do cérebro e da epiderme, entre esses animais (Sreejit *et al.*, 2020). Além disso, estudos em humanos revelaram que pacientes com grave monocitopenia mantinham a população de macrófagos da epiderme, as células de Langerhans, com densidade de 50 a 100% da normalidade (Bigley *et al.*, 2011). Ademais, pesquisas histológicas realizadas demonstraram a presença de macrófagos antes do estabelecimento da hematopoese definitiva, a qual dá origem aos monócitos (Sreejit *et al.*, 2020). Pode-se afirmar, portanto, que nem todos os macrófagos teciduais são originados de monócitos, como acreditava van Furth, alguns possuindo origem

embrionária, com alta longevidade e sendo capazes de realizar auto-renovação local nos tecidos periféricos, independente da circulação (Varol; Mildner; Jung, 2015).

Desse modo, estudos de mapeamento mostraram que células de Langerhans derivam tanto do saco vitelino quanto de monócitos do fígado fetal, mas os que persistem na vida adulta são esses últimos, que mantêm sua população por auto-renovação (Hoeffel *et al.*, 2012). Todavia, estudos mais disruptivos do modelo contínuo e linear de geração de macrófagos dizem respeito a microglia (SNC). Neles, foram usadas substâncias repórter em ratos para demonstrar a presença dessas células antes da hematopoese definitiva, e sua persistência na vida adulta, sendo assim, a maior parte da microglia adulta é derivada do saco vitelino, com habilidade de auto-renovação e independência de monócitos em ratos adultos (Ginhoux *et al.*, 2010).

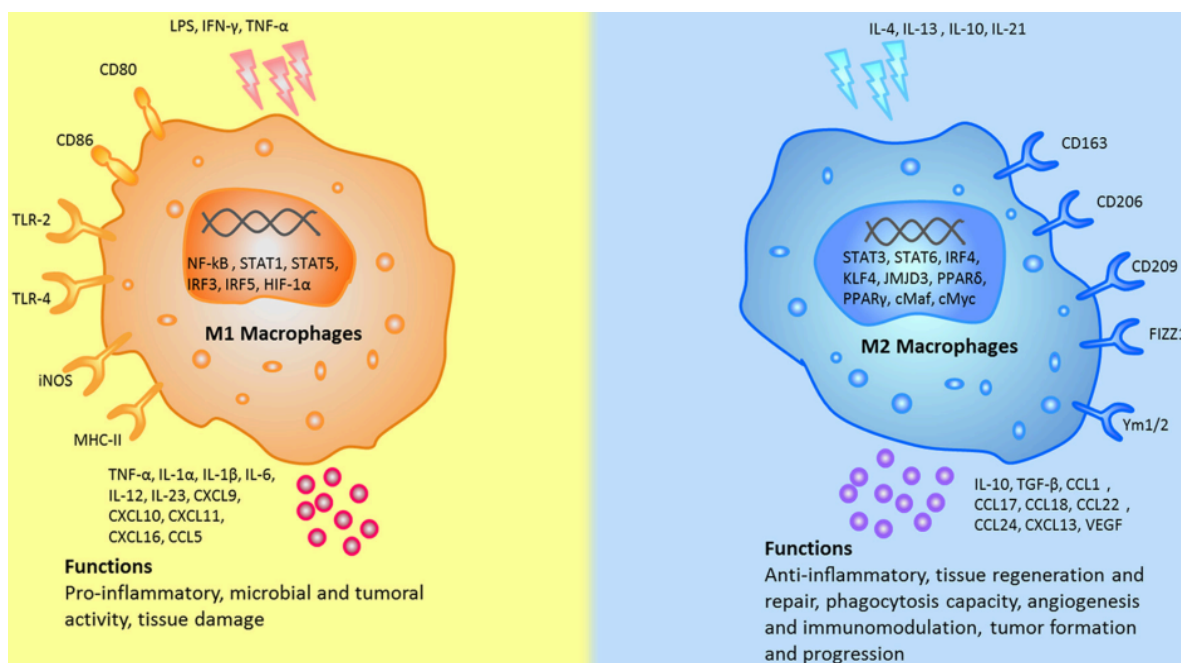
Assim, macrófagos tecido-residentes possuem múltiplas origens, do saco vitelino, de monócitos fetais ou de monócitos adultos, com os dois primeiros predominando na homeostase e o último sendo importante em situações de depleção de macrófagos, como em certas patologias, e na defesa do hospedeiro em processos inflamatórios (Haldar; Murphy, 2014). Dessa maneira, esses macrófagos do início da vida fetal possuem grande potencial proliferativo, realizam a “limpeza” de restos de células e estruturas associadas à remodelação tecidual durante o desenvolvimento embrionário, além de auxiliarem também no processo de vascularização (Varol; Mildner; Jung, 2015). Assim, estudos feitos em ratos com ausência de macrófagos durante o desenvolvimento embrionário, devido a deficiência do proto-oncogene Spi-1 (SPI1) ou do receptor do fator estimulador de colônia de macrófagos (M-CSFR ou CSF-1R), mostraram mortalidade perinatal e retardo do crescimento (McKercher *et al.*, 1996; Dai, 2002).

Ilya (Elie) Metchnikoff foi um biologista e pesquisador que, em 1908, foi premiado com um Nobel, juntamente com Paul Ehrlich, por ser o primeiro a designar funções aos macrófagos, sendo elas a participação no desenvolvimento, homeostase e proteção contra infecções (Nathan, 2008). Sendo assim, os macrófagos são definidos como a primeira linha de defesa celular do organismo, como parte do sistema imune inato, capazes de regular respostas inflamatórias, realizar remodelação tecidual e combater microrganismos invasores através da

fagocitose, além de atuarem como apresentadores de antígenos aos linfócitos T, conectando a imunidade inata à adaptativa (Nathan, 2008).

Ademais, a depender do microambiente no qual os macrófagos estão inseridos, isto é, quais os estímulos e por quanto tempo estão atuando, as citocinas, prostaglandinas, fatores de crescimento e outras moléculas presentes, irão influenciar na polarização do perfil dessas células, como apresentado na figura 4. Essa polarização refere-se ao modelo dual de ativação M1/M2 dos macrófagos, muito estudados *in vitro*, contudo, *in vivo* é observado um espectro contínuo desses subtipos, com intermediários e características que se sobrepõem (Bozec; Soulat, 2017). Sendo assim, os macrófagos possuem grande plasticidade e versatilidade, permitindo a mudança de um fenótipo para outro em resposta a estímulos do microambiente, que desencadeiam cascatas de sinalização intracelular responsáveis por essas mudanças (Bardi; Smith; Hood, 2018).

Figura 5 - Esquema dos perfis de ativação M1 e M2 de macrófagos, seus principais estímulos, marcadores de superfície, citocinas produzidas e funções.



Fonte: Yao, Xu, Jin (2019).

2.3.2 Plasticidade funcional

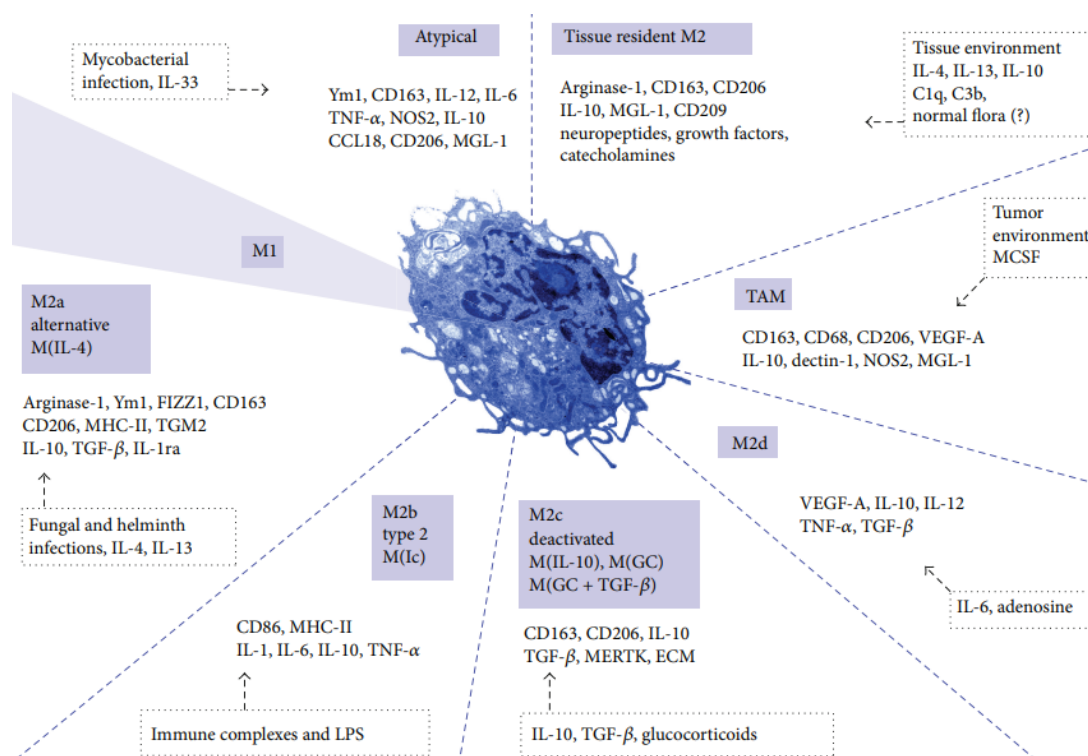
Os macrófagos M1, ou classicamente ativados, assumem esse perfil em resposta a sinalização de IFN- γ , junto ou associado a ligantes de TLRs, como o lipopolissacarídeo de bactérias (LPS), e a citocinas inflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF) (Mantovani *et al.*, 2004). Esse perfil é caracterizado por alta atividade apresentadora de antígenos, alta produção de diversas citocinas inflamatórias, como TNF- α , IL-12, IL-6 e intermediários tóxicos, como óxido nítrico (NO) e espécies reativas de oxigênio (ROS), e a consequente polarização do perfil Th1, associado a ativação de mecanismos antimicrobianos que contribuem para a eliminação de patógenos e resolução da inflamação (Atri; Guerfali; Laouuini, 2018). Os principais marcadores do perfil M1 de macrófagos são CD64, CD80, CD86, moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe II, TLR2 e TLR4 (Tarique *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2017).

Os macrófagos M2 ou de ativação alternativa, estão muito relacionados a infecções parasitárias, helmínticas e fúngicas, induzindo o perfil Th2 de linfócitos TCD4+. Esse perfil atua principalmente como modulador, inibindo a ação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-12, e liberando citocinas anti-inflamatórias como IL-4, IL-10 e TGF- β , sendo, portanto, crucial no processo de reparo (Nakai, 2021). Podem ser diferenciados com M-CSF, estimulados com IL-4, IL-13, IL-10 e imunocomplexos e apresentam como marcadores CD209 (lectina tipo C), CD163, CD206, CD11b, além das glicoproteínas CD1a e CD1b (Tarique *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2017).

Por outro lado, foram revelados subdivisões do perfil M2 em M2a, M2b, M2c e M2d, como é possível observar no esquema da figura 6. Os M2a possuem função de resolução e cicatrização de feridas, são induzidos por IL-4 e IL-13, expressam altos níveis do receptor de manose (CD206), da quimiocina CCL17 e secretam TGF- β e fibronectina, contribuindo para o reparo tecidual (Wynn; Vannella, 2016). Já os M2b são conhecidos como regulatórios, induzidos por exposição a imunocomplexos e agonistas de TLR ou do IL-1R, expressam altos níveis de CCL1 e de citocinas inflamatórias, com exceção da IL-12, na qual apresenta-se em baixos níveis, entretanto, também secreta a citocina anti-inflamatória IL-10 (Wang *et al.*, 2019).

Os M2c, por sua vez, são induzidos por IL-10 e exibem atividade anti-inflamatória e pró-fibrótica, pela liberação de IL-10 e TGF- β , respectivamente, além de alta expressão do receptor tirosina quinase Mer (MerTK), sendo eficiente na fagocitose de células apoptóticas (Zizzo *et al.*, 2012). Por fim, os M2d, também conhecidos como macrófagos associados a tumores (TAMs), são induzidos por IL-6 ou por coestimulação com ligantes de TLR e agonistas do receptor de adenosina A2, são caracterizados por alta expressão de IL-10, TGF- β e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), assim como baixa expressão de IL-12, TNF- α e IL-1 β (Wang *et al.*, 2019). Esse perfil de macrófagos são abundantes na maioria dos tumores malignos, à medida que promovem angiogênese, supressão de mecanismos antitumorais das células T e o escape de células cancerígenas para a circulação, podendo se acumular em locais distantes, formando colônias metastáticas (Yang *et al.*, 2018).

Figura 6 - Esquema dos estados de ativação mais prevalentes de macrófagos M2 e os marcadores associados aos seus respectivos fenótipos.



Fonte: Röszer (2015).

O CD206 é uma proteína transmembrana, capaz de internalizar ligantes de colágeno e glicoproteínas, sendo marcador de macrófagos M2, expresso em macrófagos teciduais, placentários (células de Hofbauer), peritoneais, da pele, do

tecido adiposo e cardíaco (Rószér, 2015). Sua expressão é estimulada por helmintoses, IL-4, GM-CSF, TGF- β e mostrou-se relacionado à resolução de quadros inflamatórios e propriedades pró fibróticas, além de participar da tolerância imunológica do feto com a produção de IL-10 e CCL18 pelos macrófagos decíduais maternos (Svensson-Arvelund *et al.*, 2015).

O CD163 faz parte da família dos receptores *scavenger*, relacionado a ligação dos complexos haptoglobina-hemoglobina (Hb-Hp), participando de processos de desintoxicação e reciclagem de ferro, na cicatrização tecidual e resolução de quadros inflamatórios, pela alta capacidade de fagocitose de células apoptóticas (Alvarado-Vazquez *et al.*, 2017). Sua expressão é amplificada por IL-4, M-CSF, IL-6, IL-10, glicocorticóides, enquanto que TNF- α , TGF- β , IFN- γ e LPS reduzem sua expressão (Fabriek *et al.*, 2005).

As moléculas de MHC de classe II são um grupo de proteínas transmembrana com 2 cadeias glicoproteicas, α e β , expressas em células apresentadoras de antígenos (APCs), como macrófagos, responsáveis por ligar e apresentar antígenos peptídicos a linfócitos TCD4⁺ (Daubenberger *et al.*, 1996). Em humanos, cada cadeia α e β contém 3 domínios que são codificados por uma das 3 sub-regiões do complexo gênico: DR, DP e DQ (Daubenberger *et al.*, 1996). O HLA-DR está associado à resposta imune contra células tumorais, levando a resultados indesejados a pacientes oncológicos, podendo estar sendo mediado por TAMs (Van Drongelen, 2020). Nesse viés, o gene HLA-DRB1 é o mais polimórfico da região HLA-II, sendo muito associado a doenças autoimunes, como diabetes tipo 1, artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistêmico (LES), síndrome de Sjogren, e esclerose múltipla (Arango *et al.*, 2017). HLA-DR é comumente utilizado como marcador de polarização M1 de macrófagos, sendo importante para a criação de uma resposta imune adaptativa em infecções (Purcu *et al.*, 2022).

5.3.3 Macrófagos placentários

Os macrófagos fetais, também chamados de células de Hofbauer, podem ser encontrados no estroma viloso da placenta a partir da 4ª semana após a concepção e permanecem em todos os estágios da gravidez (Reyes; Wolfe; Golos, 2017). São

originados tanto de progenitores presentes na população de células mesenquimais do estroma viloso quanto pela infiltração de monócitos derivados da medula óssea do embrião ou feto, que se diferenciam em macrófagos quando a circulação entre o conceito e a placenta é estabelecida (Benirschke, 2006). Assim, essas células são importantes em diversos processos fisiológicos necessários ao desenvolvimento fetal, como a angiogênese da placenta, absorção de imunocomplexos, apresentação de antígenos, balanço do fluido estromal e crescimento das vilosidades coriônicas, além de promover a tolerância imunológica materno-fetal (Demir; Erben, 1984).

Estudos realizados demonstraram que as células de Hofbauer apresentam um perfil *M2-like* (Loegl *et al.*, 2016). Além disso, de acordo com Kim *et al.* (2012), a partir de uma análise de metilação de DNA em gestações normais, essas células apresentam os genes pró-M2 CCL2, CCL13, CCL14, CD209, e A2M hipometilados, enquanto que os pró-M1 TLR9, IL1B, IL12RB2, CD48, e FGR estão hipermetilados ou silenciados. Nesse sentido, alterações no perfil de polarização dos macrófagos fetais podem impactar negativamente na gestação, causando distúrbios metabólicos de armazenamento no feto, corioamnionite e aborto espontâneo (Yao; Xu; Jin, 2019). Assim, o equilíbrio da polarização M1/M2 dos macrófagos placentários é essencial para a plasticidade funcional necessária à progressão de uma gravidez saudável.

Por outro lado, além dos macrófagos fetais (as células de Hofbauer), na placenta há também os macrófagos maternos, com papel importante na invasão trofoblástica, remodelamento das artérias espirais, fagocitose de células apoptóticas, proteção contra agentes infecciosos e na secreção de diversas citocinas e proteases (Sun; Wang; Du, 2021). Assim, no período de pré-implantação, após a inseminação, os macrófagos uterinos são majoritariamente do perfil M1, porém, quando a invasão trofoblástica se inicia, há uma conversão e os macrófagos decíduais se apresentam como uma mistura dos fenótipos M1 e M2, que se mantém até a formação da placenta e o remodelamento das artérias espirais (Sun; Wang; Du, 2021). Desse modo, essa diversa população de macrófagos permanece até o início do segundo trimestre, predominando após esse período o perfil pró-M2, que impede a rejeição do feto e estabelece um ambiente de imunotolerância materno-fetal (Jena *et al.*, 2019).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Estabelecer a relação entre o ambiente inflamatório da obesidade materna e marcadores de macrófagos através da avaliação da expressão de mRNA na decídua de gestantes obesas atendidas no Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW), em João Pessoa (PB).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar a expressão gênica dos marcadores de macrófagos CD206 e CD163 (M2) e HLA-DRB1 (M1) em gestantes eutróficas e obesas.
- Avaliar os parâmetros antropométricos (peso da placenta, IMC pré-gestacional, ganho de peso gestacional) e dados gestacionais maternos (idade gestacional, tipo de parto, comorbidades).
- Correlacionar os dados maternos aos resultados encontrados.

4. HIPÓTESE

A hipótese desse estudo é de que o ambiente placentário inflamatório estabelecido em decorrência da obesidade gestacional impactaria na polarização dos macrófagos, favorecendo a redução da expressão de marcadores de macrófagos alternativos (M2).

5. METODOLOGIA

5.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo de natureza básica, do tipo transversal descritivo, no qual busca gerar conhecimento, relacionando as variáveis através de dados e amostras coletadas no momento do parto, para entender a influência da obesidade materna na ativação dos macrófagos da decídua uterina. Desse modo, consistiu numa abordagem quantitativa realizada a partir da análise da expressão gênica de marcadores de superfície de macrófagos.

5.2 Aspectos éticos

O projeto foi submetido ao comitê de ética em pesquisa do Centro de Ciências Médicas da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), com parecer de aprovação nº 5.810.026. A população de gestantes selecionadas participou de forma voluntária, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), apresentado no anexo A. Assim, os dados foram utilizados para fins de pesquisa unicamente, mediante sigilo, como previsto na Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

5.3 Seleção das participantes do estudo

As participantes do estudo foram selecionadas dentre as gestantes usuárias do Sistema Único de Saúde (SUS), recrutadas na Maternidade do Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW), situado em João Pessoa (PB), vinculado à Universidade Federal da Paraíba e sob gestão da Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH).

As gestantes foram convidadas a participar de forma aleatória, de acordo com o número médio atendidas na instituição, dentro do período determinado para realização desta etapa da pesquisa. Os critérios de inclusão para essa seleção compreenderam gestantes obesas e eutróficas, maiores de 18 anos, com gestação a termo e que concordassem em participar mediante assinatura do TCLE (anexo A).

Já os critérios de exclusão consistiram em participantes convivendo com HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana), Hepatite C (HCV), doenças autoimunes, doenças infecciosas ativas, tabagistas, etilistas e que houve perda fetal ou neonatal. O RNA foi extraído e a expressão dos endógenos e alvos gênicos foram avaliados em 51 amostras, entretanto apenas em 40 amostras ocorreu detecção de todos os alvos, totalizando um N de 20 gestantes eutróficas e 20 gestantes obesas.

5.4 Coleta de dados e amostras

Os dados pessoais e demográficos foram obtidos a partir do prontuário médico de cada gestante participante do estudo. Ademais, também foram coletados e avaliados dados a respeito da composição corporal materna, a partir do cálculo do IMC, de acordo com Organização Mundial da Saúde (OMS). Desse modo, peso e altura da mãe, comorbidades que elas possuíam e peso da placenta também foram coletados dos prontuários médicos das pacientes no hospital, utilizando um questionário (anexo B) como guia para o registro desses dados.

A amostras das placentas foram coletadas de 3 cotilédones de regiões distintas, após remoção da placenta no parto, e armazenadas em solução salina a 4-8°C para transporte até o Laboratório de Biologia Molecular (Labimol), localizado no Centro de Ciências Médicas (CCM). Ao chegar, as amostras foram lavadas com solução salina, e a decídua basal, parte materna da placenta, foi separada da parte fetal (córion viloso) e armazenada em inibidor de protease ou RNA*latter*, um reagente de armazenamento com ação estabilizadora de RNA, em ultrafreezer, até posterior processamento do tecido.

5.5 Avaliação da expressão gênica

O RNA total das amostras da decídua foi extraído e purificado segundo o kit Maxwell® RSC simplyRNA tissue (Promega, EUA), processo esse realizado no aparelho automatizado Maxwell® Rapid Sample Concentrator 48 (RSC 48) (Promega, EUA). Por sua vez, o RNA total extraído foi quantificado segundo as instruções do kit QuantiFluor® RNA System (Promega), com leitura realizada no

aparelho Quantus™ Fluorometer (Promega). Em seguida, foi realizada a transcrição reversa de forma randômica de quantidades iguais de RNA, para obtenção do cDNA, utilizando o iScript cDNA Synthesis Kit (BIO-RAD, EUA), seguindo as recomendações do fabricante. Depois, realizou-se a reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) com o kit SYBR™ Green PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific) no termociclador QuantStudio3 (Thermo Fisher Scientific, EUA). Foram utilizados os primers específicos para os mRNAs alvos dos seguintes genes marcadores de macrófagos: CD206, HLA-DRB1 e CD163, utilizando β -actina e tirosina 3-monooxigenase (YWHAZ) como controles endógenos. A quantificação da expressão relativa em relação ao gene endógeno feito a partir do ^{dd}Ct , para demonstrar a variação na expressão gênica.

5.6 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados comparando os resultados nos grupos de gestantes obesas e eutróficas para entender a relação e os impactos da inflamação e adiposidade placentária na expressão de marcadores de macrófagos. Primeiramente, os resultados foram submetidos a testes de normalidade, em que os dados paramétricos foram analisados com teste T de Student para comparação entre dois grupos, representados como média $\pm$ desvio padrão. Os dados não paramétricos foram analisados pelo teste de Mann-Whitney e representados pela mediana e intervalo interquartil. Por fim, a análise de correlação de Spearman foi realizada para verificar a relação entre variáveis maternas e dados da expressão gênica e para análises de associação entre variáveis foi utilizado o teste Qui-quadrado e de Fisher. Os resultados e os gráficos foram elaborados utilizando o programa estatístico GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, San Diego, CA), sendo consideradas diferenças estatisticamente significativas se $P < 0,05$.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta os dados antropométricos e demográficos das participantes analisadas neste estudo. Com relação à idade materna, idade gestacional, peso da placenta e o tipo de parto, não houve diferenças significativas. Já para as variáveis IMC pré-gestacional, ganho de peso gestacional e comorbidades houveram diferenças significativas. O grupo das obesas apresentou maior média de IMC pré-gestacional, como esperado, já o ganho de peso gestacional apresentou maior média no grupo das eutróficas.

Estudos apontaram que em mulheres com peso normal, sobrepeso e obesidade, os índices de complicações aumentaram com o excesso de ganho de peso, com o risco de surgimento de distúrbios como diabetes *mellitus* gestacional (DMG), hipertensão gestacional e pré-eclâmpsia (Nelson; Matthews; Poston, 2010; Crane *et al.*, 2009). Assim, 6 gestantes do grupo das obesas e 13 das eutróficas não apresentaram nenhuma das três comorbidades analisadas, hipertensão arterial (HA), diabetes *mellitus* (DM) ou pré-eclâmpsia. Além disso, 3 das obesas possuíam DM e HA, enquanto que nenhuma do grupo das eutróficas possuíam as duas comorbidades de forma simultânea.

Nessa perspectiva, independentemente da adiposidade materna ou IMC pré-gestacional, há um aumento de gordura desde o início da gestação, necessário para as demandas nutricionais e sustentação do feto (Dennedy; Dunne, 2010). O Ministério da Saúde informa na Caderneta da Gestante as curvas de ganho de peso gestacional recomendados para cada estado nutricional, de acordo com o IMC pré-gestacional, ao longo das semanas de gestação, estando os valores até 40 semanas de gestação apresentados na tabela 2 (Brasil, 2024b). Desse modo, como as médias de ganho de peso gestacional foram 13,2 e 8,3 kg, respectivamente, para eutróficas e obesas, percebe-se que ambos os grupos estão acima da faixa recomendada.

Por outro lado, Kac *et al.* (2021) reuniu dados de 7086 mulheres do Consórcio Brasileiro de Nutrição Materno-infantil (CONMAI) de 1990-2018, em que as medianas e intervalos interquartis de ganho de peso gestacional para eutróficas e obesas foram, respectivamente, 13,8 (10.7–17.2) e 8,9 kg (4.8–13.2 kg). Assim,

esses achados estão próximos aos deste estudo, em que contaram com medianas e intervalos interquartis para o ganho de peso de 11,4 (8,4-17,7) e 9,1 (3,7-13,3) kg em eutróficas e obesas, respectivamente.

Tabela 1 - Dados maternos e antropométricos dos grupos de gestantes eutróficas e obesas.

Características	Eutróficas IMC < 25 (n= 20)	Obesas IMC > 30 (n=20)	P valor
Idade em anos (média ± DP)	26,8 ± 5,8	28,4 ± 7,2	0.4309
Idade gestacional em semanas (média ± DP)	38,6 ± 1,3	38,8 ± 1,4	0.6456
IMC pré-gestacional em kg/m² (média ± DP)	22 ± 2,6	34,1 ± 3,3	<0.0001*
Ganho de peso gestacional em quilogramas (média ± DP)	13,2 ± 6,4	8,3 ± 7,5	0.0319*
Peso da placenta em gramas (média ± DP)	553,1 ± 98,2	603,6 ± 155,9	0.2278
Tipo de parto (n, %)			0.2049
Vaginal	12 (60%)	7 (35%)	
Cesárea	8 (40%)	13 (65%)	
Comorbidades (n, %)			0.0197*
Hipertensão arterial	3 (15%)	11 (55%)	
Pré-eclâmpsia	0 (0%)	3 (15%)	
Diabetes <i>mellitus</i>	4 (20%)	4 (20%)	

Dados representados como média±desvio padrão (DP), número de indivíduos e porcentagem. Teste T student e Qui quadrado (ou Fisher). Significativo quando p<0,05.

Fonte: Próprio autor, 2025.

Tabela 2 - Ganho de peso gestacional recomendado, de acordo com o IMC pré-gestacional.

Estado nutricional pré-gestacional	IMC pré-gestacional (kg/m²)	Ganho de peso gestacional (kg)
Baixo peso	< 18,5	9,7 - 12,2
Peso adequado	18,5 - 24,9	8 - 12
Sobrepeso	25,0 - 29,9	7 - 9
Obesidade	≥ 30,0	5 - 7,2

Fonte: Adaptado de Brasil (2024b).

A gestação é caracterizada por uma série de alterações celulares e fisiológicas, responsáveis pelo desenvolvimento fetal. Nesse momento é estabelecido um ambiente inflamatório, comparado com o estado não-grávido, entretanto, há momentos em que esse estado predomina para a ocorrência de certos eventos e outros em que se estabelece uma imunossupressão, responsável pela prevenção da rejeição do feto pelo organismo materno (Pantham; Aye; Powell, 2015). Assim, o desequilíbrio causado pela obesidade pode alterar o funcionamento e a estrutura da placenta, perturbando o microambiente e suas células imunológicas. Challier *et al.* (2008) demonstraram que o número de macrófagos na placenta de gestantes obesas dobrou, quando comparado com o das eutróficas, além de um aumento na expressão do mRNA das citocinas inflamatórias IL-1, TNF- α e IL-6 no vilos das vilosidades. Entretanto, estudos realizados por Aye *et al.* (2014) mostraram que, apesar das citocinas inflamatórias MCP-1 (CCL2) e TNF- α estarem elevadas no soro de gestantes obesas, não sofreram alterações no sangue do cordão umbilical, sugerindo que a obesidade materna impacta o desenvolvimento do feto alterando a função placentária e não diretamente o perfil inflamatório dele. Desse modo, é preciso que haja um equilíbrio entre esses dois estados, de acordo com as necessidades fisiológicas e metabólicas de cada etapa da gestação.

Os macrófagos, por constituírem a maior parte das APCs da decídua, são as principais células responsáveis por manter o equilíbrio entre tolerância e proteção contra patógenos e infecções (Svensson *et al.*, 2011). Estudos realizados por Rong *et al.* com sequenciamento de células individuais demonstraram que os macrófagos

deciduais afetam as funções de outras células imunes, assim, a expressão anormal de certos genes causa alterações nos mecanismos imunorreguladores, podendo levar a ocorrência da pré-eclâmpsia. Além disso, outras complicações podem ocorrer quando há uma diminuição na expressão dos marcadores CD163, CD206 e CD209, como restrição do crescimento intra-uterino, aborto espontâneo e parto prematuro (Sun; Wang; Du, 2021).

Desse modo, estudos realizados por Shimada *et al.* (2018) demonstraram que macrófagos M1, determinado por eles como CD68⁺HLA-DR⁺CD163⁻, foram encontrados em grande quantidade na decidua de abortos sem causa aparente, enquanto que macrófagos M2 (CD68⁺HLA-DR⁻CD163⁺) estavam altamente expressos no endométrio e decidua de gestações normais. Por outro lado, estudos prévios apontaram que macrófagos HLA-DR^{high} são metabolicamente mais ativos que os HLA-DR^{low}, possuindo uma maior taxa de consumo de oxigênio, alta expressão do transportador de glicose GLUT1, além de uma *up-regulation* de vias relacionadas à respostas ao estresse, processamento de antígenos e transporte de lipoproteínas e colesterol em grupos de obesas comparado com eutróficas (Sureshchandra *et al.*, 2023). Assim, essas consequências possivelmente estão relacionadas a respostas anormais de macrófagos, causadas por um desequilíbrio nos estados M1/M2.

Os resultados das análises de expressão relativa do mRNA dos alvos CD206, CD163 e HLA-DRB1 estão apresentados na figura 7, assim como os gráficos de correlações entre as expressões e o IMC pré-gestacional na figura 8. Os marcadores CD163 e CD206 apresentaram maior expressão no grupo das eutróficas, nas análises com ambos genes de referência, β -actina e YWHAZ, concordando também com os achados nas análises de correlação com o IMC, em que quanto menor o IMC pré-gestacional maior a expressão desses genes.

Esses achados se assemelham aos de Rajakumar *et al.* (2020) e Svensson *et al.* (2011) que, por citometria de fluxo, encontraram os fenótipos CD14⁺CD163⁺ e CD163⁺CD206⁺CD209⁺, respectivamente, de macrófagos deciduais de gestantes com peso normal, corroborando com a hipótese de polarização M2 dessas células. Ao mesmo tempo, esses genes apresentaram baixa expressão no grupo das obesas, comparada com as eutróficas, concordando com dados que apontam uma

tendência a um perfil M1, pró-inflamatório, no contexto da obesidade, apresentado por Merkulov *et al.* (2025) como um decréscimo nas populações CD68⁺CD163⁺CD206⁺ e CD68⁺CD163⁻CD206⁺ em pacientes com IMC > 25 kg/m², comparado com o grupo com IMC < 25.

Por outro lado, análises de imunohistoquímica de Zelinka-Khobzey *et al.* (2021), com gestantes obesas, demonstraram uma alta expressão de macrófagos CD68⁺ e CD163⁺ na decídua, como também da predominância do fenótipo CD163⁺ nas células de Hofbauer (macrófagos fetais) do terminal coriônico viloso, sugerindo um mecanismo compensatório para o aumento do estado inflamatório. Assim, percebe-se que há uma maior necessidade de um perfil funcional de macrófagos imunomoduladores, ao invés de pró-inflamatórios, à medida que mantenham a homeostase, promovam tolerância materno-fetal e remodelamento tecidual.

Com relação a expressão do HLA-DRB1, houveram divergências nos resultados entre os genes de referência utilizados, no qual a análise relativa ao YWHAZ não apresentou diferenças significativas entre os grupos de obesas e eutróficas. Por outro lado, na expressão relativa ao β -actina os testes estatísticos apresentaram diferenças entre os grupos, em que houve maior expressão no grupo das eutróficas, comparado com o das obesas. Analogamente, estudos prévios demonstram um aumento nos macrófagos de perfil HLA-DR^{high} na decídua de gestantes obesas, em que a frequência deste subtipo está correlacionada positivamente com o IMC pré-gestacional (Sureshchandra *et al.*, 2023). Já em modelos murinos analisados por Li *et al.* (2021), ratas com gestação normal submetidas a uma dieta obesogênica não demonstraram diferenças na quantidade total de macrófagos na decídua, mas uma elevada proporção de subtipos MHC-II^{high} destas células, corroborando a hipótese de que a obesidade materna estimula a inflamação local da decídua.

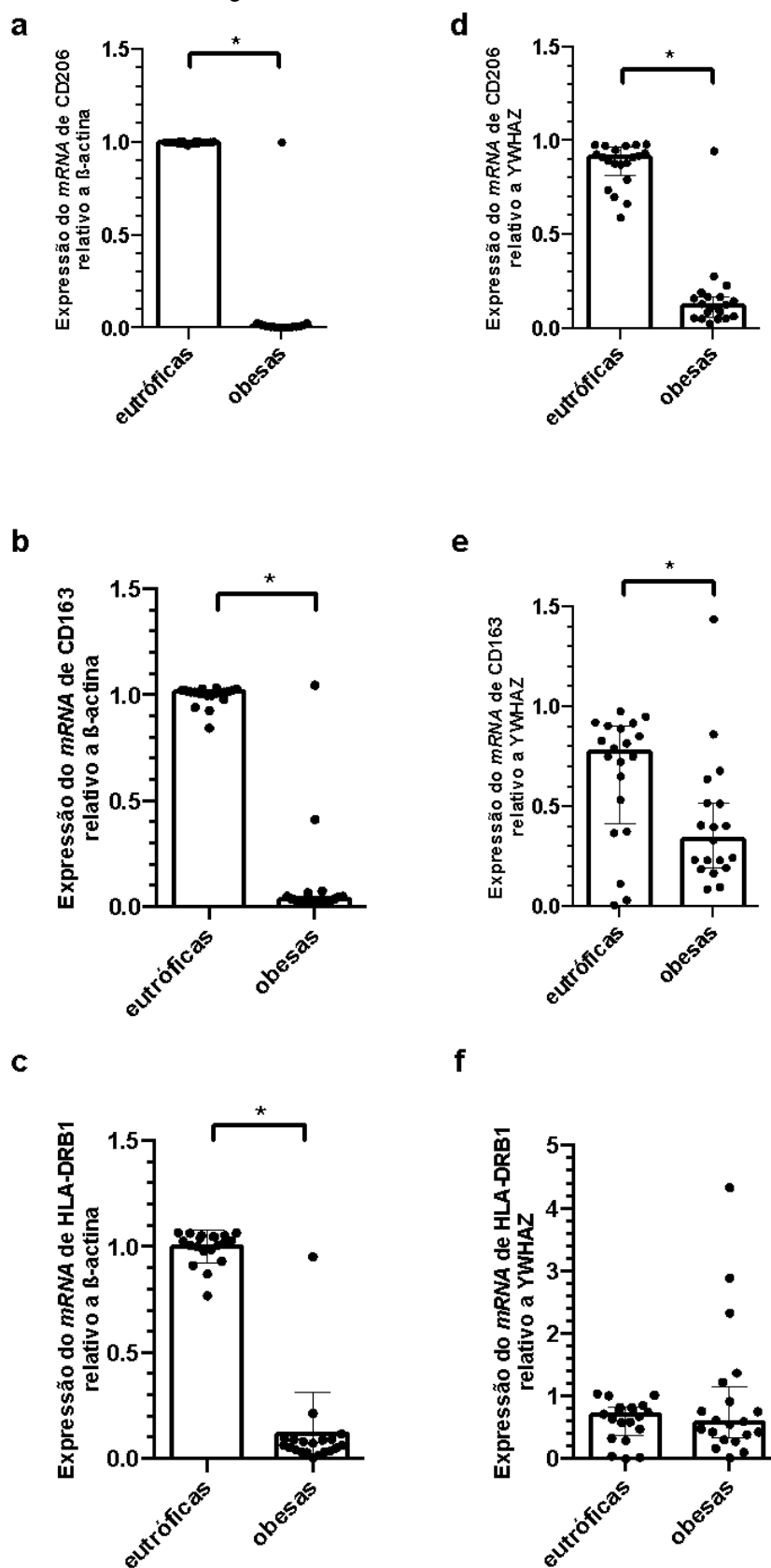
Entretanto, Laskewitz e colaboradores (2019) encontraram resultados semelhantes ao deste estudo quando caracterizaram macrófagos da decídua de mulheres obesas com gestações sem complicações, havendo baixos níveis do fenótipo HLA-DR⁺CD163⁻, considerado pró-inflamatório, comparado com o grupo controle. Sendo sugerido, portanto, um mecanismo compensatório do organismo materno para solucionar o estado inflamatório exacerbado da obesidade, para

impedir que cause complicações ao feto. Assim, ainda são necessários mais estudos para entender as mudanças que a alta adiposidade gestacional causa no perfil inflamatório e funcional dos macrófagos, visto que ainda há divergências quanto a caracterização dessas células por meio de marcadores fenotípicos.

É notório que o excesso de ganho de peso gestacional e a consequente deposição de gordura visceral podem impactar o ambiente placentário, à medida que alteram o estado inflamatório tecidual. Nesse sentido, foi feita uma análise de correlação do GPG com a expressão gênica dos alvos do estudo, para verificar se há relação entre a expressão de marcadores de macrófagos com o excesso de ganho de peso na gestação. Os resultados estão apresentados na figura 9, em que houve significância nas correlações com expressão dos genes relativos à β -actina. Esses achados são compatíveis com as análises de expressão relativa realizadas anteriormente neste estudo, visto que houve maior expressão dos três genes-alvo no grupo das eutróficas, assim como maior média de ganho de peso gestacional também neste grupo, resultando em uma correlação positiva entre as condições testadas.

Já em relação à expressão dos genes-alvo utilizando YWHAZ como endógeno, houve significância apenas para o CD206, com correlação positiva. Entretanto, para o CD163 e HLA-DRB1 não houve significância estatística, provavelmente devido a também ausência de diferença entre os grupos quanto à expressão do HLA-DRB1 e à maior instabilidade dos dados de expressão gênica relativos ao YWHAZ.

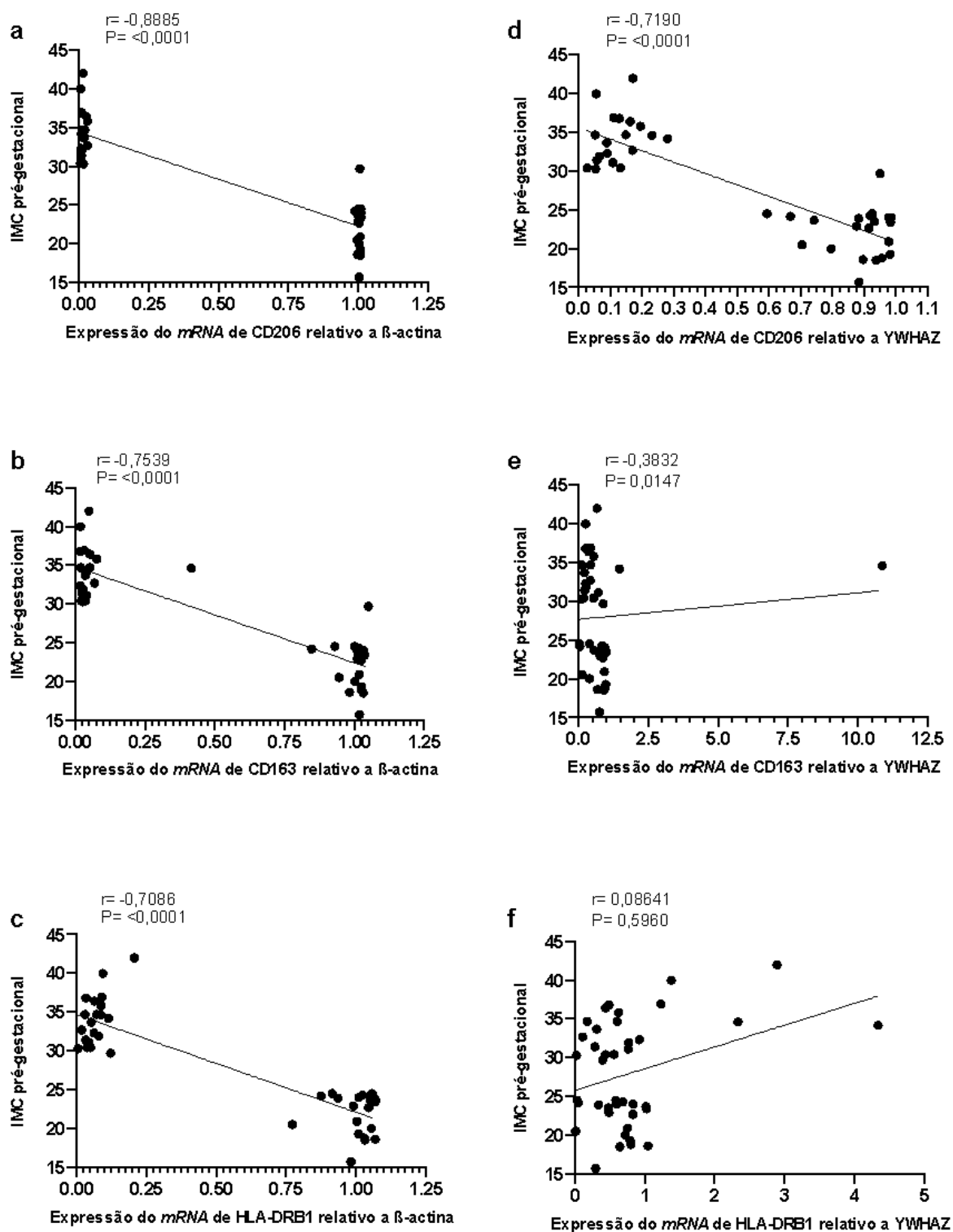
Figura 7 – Expressão do mRNA de CD206, CD163 e HLA-DRB1 relativa a β -actina e YWHAZ em gestantes eutróficas e obesas.



Análise de correlação de Spearman com P significativa quando <0.05 .

Fonte: Próprio autor, 2025.

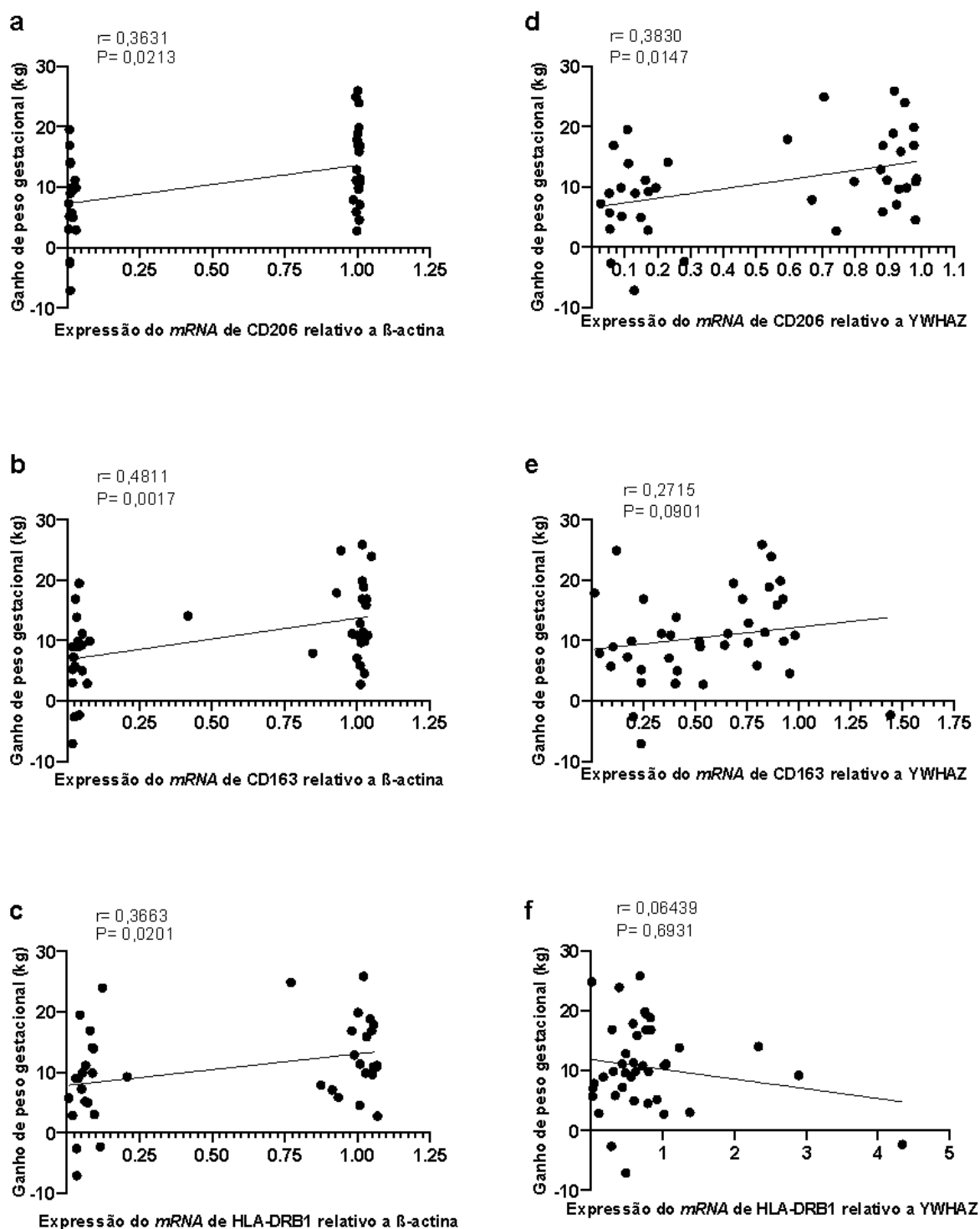
Figura 8 - Correlação entre a expressão do mRNA dos genes CD206, CD163 e HLA-DRB1 e o IMC pré-gestacional.



Análise de correlação de Spearman com P significativo quando <0.05 .

Fonte: Próprio autor, 2025.

Figura 9 - Correlação entre a expressão do mRNA dos genes CD206, CD163 e HLA-DRB1 e o ganho de peso gestacional.



Análise de correlação de Spearman com P significativo quando <0.05 .

Fonte: Próprio autor, 2025.

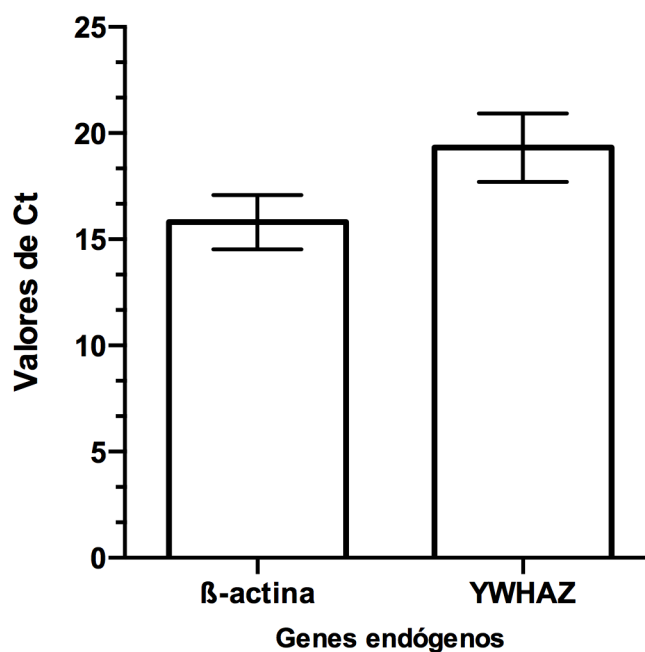
A normalização da expressão dos genes alvo de um estudo necessitam de genes de referência ou endógenos estáveis, para que a análise da expressão seja precisa. De acordo com estudos de Arrowsmith (2021) na busca pelo gene endógeno mais adequado para análises de qPCR em miométrio de mulheres grávidas, de 12 endógenos analisados, encontrou como os mais estáveis, respectivamente, o citocromo c-1 (CYC1), ATP sintase (ATP5B) e tirosina 3-monooxigenase (YWHAZ), enquanto que β -actina apresentou-se em 9º lugar no ranking. De forma semelhante, experimentos de Murthi *et al.* (2008) e Meller *et al.* (2005) também demonstraram YWHAZ como um dos endógenos mais estáveis em análises de amostras de placenta.

Dessa forma, visto as divergências apresentadas nos resultados da expressão gênica dos alvos entre β -actina e YWHAZ como endógenos, a figura 10 apresenta uma análise de comparação entre os valores de Ct da qPCR de ambos genes de referência em amostras de decídua, em que apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Assim, as médias dos valores de Ct referente a β -actina e a YWHAZ foram 15,81 e 19,32, com desvio-padrão de 1,276 e 1,610, respectivamente. Desse modo, β -actina demonstrou menor variação nos valores de Ct, assim como menor média de Ct. Corroborando com nossos achados, Panagodimou *et al.* (2022) comparou a estabilidade dos endógenos β -actina, RNA ribossomal 18s (18S) e o gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) na placenta de mulheres com síndrome do ovário policístico (SOP) e mulheres com gestação a termo e sem complicações. Os resultados demonstraram que a β -actina obteve a expressão mais estável dentre os demais, sendo adequada para as condições em questão.

A variação da estabilidade de genes de referência pode estar relacionada às características da população do estudo, variando de acordo com as condições presentes, sendo assim necessário analisar os genes endógenos mais adequados para cada experimento de forma singular.

Figura 10 - Gráfico apresentando a média e desvio padrão dos valores de Ct em duplicata dos genes de referência β -actina e YWHAZ.

	β -actina	YWHAZ
Mean	15.81	19.32
Std. Deviation	1.276	1.610
Std. Error of Mean	0.1427	0.1800



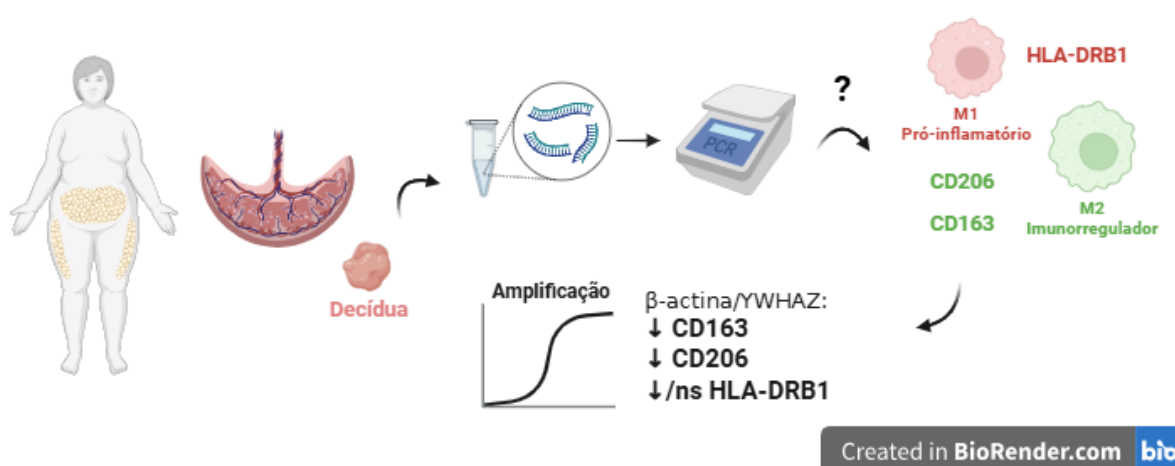
Fonte: Próprio autor, 2025.

Por fim, como limitações do estudo destacamos o N amostral pequeno, a avaliação dos marcadores apenas por expressão gênica, a presença de comorbidades na maior parte das gestantes obesas, que possuíam hipertensão ou diabetes *mellitus*, sendo essas condições clínicas que podem influenciar o estado inflamatório materno. Além disso, devido à proximidade da decídua e do vilo placentário, durante a remoção dos tecidos há a possibilidade de contaminação de vilo nas amostras de decídua utilizadas para análise.

7. CONCLUSÃO

Assim, como esquematizado na figura 11, em que apresenta um fluxograma dos processos realizados para a obtenção dos resultados, têm-se que a expressão dos marcadores CD163 e CD206 foram significativas, enquanto que para a avaliação da expressão do HLA-DRB1, a interpretação dos resultados é influenciada pela escolha do gene endógeno, apresentando-se como um fator limitante neste estudo. Portanto, conclui-se que a obesidade materna impacta negativamente a expressão dos marcadores CD163 e CD206 na decídua, sendo, dentre os parâmetros avaliados nesse estudo, o IMC pré-gestacional o principal determinante deste achado.

Figura 11 - Fluxograma representando um resumo do estudo e seus principais resultados.



Fonte: Próprio autor, 2025.

REFERÊNCIAS

- Acharya G., Sonesson S., Flo K., Rasanen J., Odibo A. Hemodynamic aspects of normal human feto-placental (umbilical) circulation. **Acta Obstet Gynecol Scand.** v. 95, p. 672–682, 2016.
- Afshin A., Forouzanfar M., *et al.* Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. **N Engl J Med.** v. 377, n. 1, p. 13-27, 2017.
- Alvarado-Vazquez P., Bernal L., Paige C., Grosick R., Vilrriales C., Ferreira D., Ulecia-Moron C., Romero-Sandoval E. Macrophage-specific nanotechnology-driven CD163 overexpression in human macrophages results in an M2 phenotype under inflammatory conditions. **Immunobiology.** v. 222, n. 8-9, p. 900-912, 2017.
- Andersen C., Murphy K., Fernandez M. Impact of Obesity and Metabolic Syndrome on Immunity. **Adv Nutr. Fairfield.** v. 7, n. 1, p. 66-75, jan 2016.
- Arango M., Perricone C., Kivity S. *et al.* HLA-DRB1 the notorious gene in the mosaic of autoimmunity. **Immunol Res.** v. 65, p. 82–98, 2017.
- Arrowsmith S. Identification and validation of suitable reference genes for quantitative real-time PCR gene expression analysis in pregnant human myometrium. **Molecular biology reports.** v. 48, n. 1, p. 413–423, 2021.
- Atri C., Guerfali F., Laouini D. Role of Human Macrophage Polarization in Inflammation during Infectious Diseases. **International Journal of Molecular Science.** Jarzouna. v. 19, n. 6, p. 1801, jun 2018.
- Aye I., Lager S., Ramirez V., Gaccioli F., Dudley D., Jansson T. *et al.* Increasing maternal body mass index is associated with systemic inflammation in the mother and the activation of distinct placental inflammatory pathways. **Biol Reprod.** v. 90, n. 6, p. 129, 2014.
- Bardi G., Smith M., Hood J. Melanoma exosomes promote mixed M1 and M2 macrophage polarization. **Cytokine.** v. 105, p. 63–72, 2018.
- Benirschke K., Kaufmann P., Baergen, R. Pathology of the human placenta. **Springer Nature.** New York. 2006.
- Bigley V., Haniffa M., Doulatov S. *et al.* The human syndrome of dendritic cell, monocyte, B and NK lymphoid deficiency. **J Exp Med.** v. 208, n. 2, p. 227–234, fev 2011.
- Bozec A., Soulat D. Latest perspectives on macrophages in bone homeostasis. **Pflugers Arch.** v. 469, n. 3–4, p. 517–525, 2017.
- Brasil. **Ministério da saúde.** Excesso de peso e obesidade. Brasília, DF: Ministério da saúde, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/saps/promocao-da-saude/excesso-de-pe-so-e-obesidade>. Acesso em: 15 ago 2024.

Brasil. **Ministério da Saúde**. Boletim epidemiológico. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Cenário da Obesidade no Brasil. Brasília, DF: Ministério da Saúde, v. 55, n. 7, 2024a. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2024/boletim-epidemiologico-volume-55-no-07.pdf/view>. Acesso em: 15 ago 2024.

Brasil. **Ministério da Saúde**. Caderneta da gestante [Versão eletrônica] 8a ed. Brasília (DF): Ministério da Saúde, 2024b. Disponível em: https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/caderneta_gestante_8ed_rev.pdf. Acesso em: 13 abr 2025.

Castoldi A., Souza C., Câmara N., Moraes-Vieira P. The Macrophage Switch in Obesity Development. **Frontiers in Immunology**. São Paulo. v. 6, n. 637, jan 2016.

Challier J., Basu S., Bintein T. *et al.* Obesity in pregnancy stimulates macrophage accumulation and inflammation in the placenta. **Placenta**. v. 29, n. 3, p. 274-281, 2008.

Champion M., Harper L. Gestational Weight Gain: Update on Outcomes and Interventions. **Curr Diab Rep**. v. 20, n. 11. 2020.

Dahlgren J., Nilsson C., Jennische E., Ho H., Eriksson E., Niklasson A. *et al.* Prenatal cytokine exposure results in obesity and gender-specific programming. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab**. v. 281, n. 2, p. 326-334. 2001.

Dai X. Targeted disruption of the mouse colony-stimulating factor 1 receptor gene results in osteopetrosis, mononuclear phagocyte deficiency, increased primitive progenitor cell frequencies, and reproductive defects. **Blood**. v. 99, n. 1, p. 111-20, 2002.

Daubenberger C., Lang B., Nickel B., Willcox N., Melchers I. Antigen processing and presentation by a mouse macrophage-like cell line expressing human HLA class II molecules. **International Immunology**. v. 8, n. 3, p. 307-315, 1996.

Demir R., Erben T. Some new findings about Hofbauer cells in the chorionic villi of the human placenta. **Acta Anat. Antalya**. v. 119, n. 1, p. 18-26, jan 1984.

Dennedy M., Dunne F. The maternal and fetal impacts of obesity and gestational diabetes on pregnancy outcome. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**. Galway. v. 24, n. 4, p. 573-589, 2010.

Dimasuay K., Boeuf P., Powell T., Jansson T. Placental Responses to Changes in the Maternal Environment Determine Fetal Growth. **Front Physiol**. v. 7, n.12. 2016.

Djelantik A., Kunst A., van der Wal M., Smit H., Vrijkotte T. Contribution of overweight and obesity to the occurrence of adverse pregnancy outcomes in a multi-ethnic cohort: population attributive fractions for Amsterdam. **BJOG**. v. 119, n. 3, p.

283-290. 2012

Fabrick B., Dijkstra C., van den Berg T. The macrophage scavenger receptor CD163. **Immunobiology**. Amsterdam, The Netherlands. v. 210, p. 153–160, 2005.

Ginhoux F. *et al.* Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. **Science**. v. 330, p. 841–845, 2010.

Gregor M., Hotamisligil G. Inflammatory mechanisms in obesity. **Annual review of immunology**. v. 29, p. 415-45, 2011.

Haldar M., Murphy K. Origin, development, and homeostasis of tissue-resident macrophages. **Immunol Rev**. v. 262, n. 1, p. 25-35. 2014.

Heikkinen J., Möttönen M., Komi J., Alanen A., Lassila O. Phenotypic characterization of human decidual macrophages. **Clin Exp Immunol**. v. 131, n. 3, p. 498-505, mar 2003.

Heslehurst N., Lang R., Rankin J., Wilkinson J., Summerbell C. Obesity in pregnancy: a study of the impact of maternal obesity on NHS maternity services. **BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology**. Middlesbrough. v. 114, n. 3, p. 334-42, mar 2007.

Hettinger J., Richards D., Hansson J. *et al.* Origin of monocytes and macrophages in a committed progenitor. **Nature Immunology**. Heidelberg. v. 14, p. 821–830, jun 2013.

Hoeffel G. *et al.* Adult Langerhans cells derive predominantly from embryonic fetal liver monocytes with a minor contribution of yolksac-derived macrophages. **J Exp Med**. v. 209, p. 1167–1181, 2012.

Huppertz B. The anatomy of the normal placenta. **Journal of clinical pathology**. v. 61, n. 12, p. 1296-302, 2008.

Jaguin M., Houlbert N., Fardel O., Lecureur V. Polarization profiles of human M-CSF-generated macrophages and comparison of M1-markers in classically activated macrophages from GM-CSF and M-CSF origin. **Cell Immunol**. v. 28, n. 1, p. 51-61, jan 2013.

Jena M., Nayak N., Chen K. *et al.* Role of Macrophages in Pregnancy and Related Complications. **Arch. Immunol. Ther. Exp. Detroit**. v. 67, p. 295–309, jul 2019.

Johnson J. *et al.* Trends in gestational weight gain: the Pregnancy Risk Assessment Monitoring System, 2000-2009. **American journal of obstetrics and gynecology**. v. 212, n. 6. 2015.

Crane J., White J., Murphy P., Burrage L., Hutchens D. The Effect of Gestational Weight Gain by Body Mass Index on Maternal and Neonatal Outcomes. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada**. v. 31, n. 1, p. 28-35, 2009.

Kac G., Carilho T., Rasmussen K. *et al.* Gestational weight gain charts: results from the Brazilian Maternal and Child Nutrition Consortium. **Am J Clin Nutr.** v. 113, n. 5, p. 1351-1360. 2021.

Kemp M., Kallapur S., Jobe A., Newnham J. Obesity and the developmental origins of health and disease. **J Paediatr Child Health.** v. 48, n. 2, p. 86-90. 2012.

Khanna D., Khanna S., Khanna P. *et al.* Obesity: A Chronic Low-Grade Inflammation and Its Markers. **Cureus.** v. 14, n. 2, p. 22711, fev 2022.

Kim S., Romero R., Tarca A., Bhatti G., Kim C., Lee J., Elsey A., Than N., Chaiworapongsa T., Hassan SS., Kang G., Kim J-S. Methylome of fetal and maternal monocytes and macrophages at the feto-maternal interface. **Am J Reprod Immunol.** v. 68, p. 8–27, 2012.

Lacagnina S. The Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD). **Am J Lifestyle Med.** v.14, n.1, p. 47-50. 2019.

Lapice E., Maione S., Patti L. *et al.* Abdominal adiposity is associated with elevated C-reactive protein independent of BMI in healthy non obese people. **Diabetes Care.** v.32, n.9, p.1734–1736, 2009.

Laskewitz A., van Benthem K., Kieffer T., Faas M., Verkaik-Schakel R., Plösch T., Scherjon S., Prins J. The influence of maternal obesity on macrophage subsets in the human decidua. **Cellular Immunology.** v. 336, p. 75-82, 2019.

Lavin Y., Winter D., Blecher-Gonen R., David E., Keren-Shaul H., Merad M., Jung S., Amit I. Tissue-resident macrophage enhancer landscapes are shaped by the local microenvironment. **Cell.** v. 159, p. 1312–1326, 2014.

Lecoutre S., Breton C. Maternal nutritional manipulations program adipose tissue dysfunction in offspring. **Front Physiol.** França. v. 6. 2015.

Li Y., Chen J., Lin Y. *et al.* Obesity Challenge Drives Distinct Maternal Immune Response Changes in Normal Pregnant and Abortion-Prone Mouse Models. **Front Immunol.** v. 12, p. 694077, jun 2021.

Liu R., Nikolajczyk B. Tissue immune cells fuel obesity-associated inflammation in adipose tissue and beyond. **Front Immunol.** Lexington. v. 10, n. 1587. jul 2019.

Loegl J., Hiden U., Nussbaumer E., Schliefssteiner C., Cvitic S., Lang I. *et al.* Hofbauer cells of M2a, M2b and M2c polarization may regulate feto-placental angiogenesis. **Reproduction.** Graz. v. 152, p. 447–55, 2016.

Mantovani A., Sica A., Sozzani S., Allavena P., Vecchi A., Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. **TRENDS in Immunology.** Milão. v. 25, n. 12, p. 677-686, dez 2004.

McKercher S., Torbett B., Anderson K., Henkel G., Vestal D. *et al.* Targeted disruption of the PU.1 gene results in multiple hematopoietic abnormalities. **EMBO J.** v. 15, n.

20, p. 5647–58, 1996.

Meller M., Vadachkoria S., Luthy D., Williams M. Evaluation of housekeeping genes in placental comparative expression studies. **Placenta**. v. 26, n. 8-9, p. 601-607, 2005.

Merkulov E., Prozorova A., Samoilova I., Svarovsky D., Sidorenkova K., Spirina L., Stakheeva M., Timofeeva O., Petrov I. Monocyte and Macrophage in Follicular Liquid: Predictive Markers of Embryo Quality in Women with Obesity and Infertility. **Front. Biosci.** (Landmark Ed). v. 30, n. 1, p. 26660, 2025.

Miaomiao R., Xingyu Y., Hongya Z., Chan Z., Cong Z. Dysfunction of Decidual Macrophages Is a Potential Risk Factor in the Occurrence of Preeclampsia. **Frontiers in Immunology**. Shanghai. v. 12, n. 655655, mai 2021.

Moore K., Persaud T., Torchia M. **Embriologia Básica**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2022. E-book. ISBN 9788595159020. Disponível em: <https://bookplay.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788595159020/>. Acesso em: 14 ago. 2024.

Murthi P., Fitzpatrick E., Borg A., Donath S., Brennecke S., Kalionis B. GAPDH, 18S rRNA and YWHAZ are suitable endogenous reference genes for relative gene expression studies in placental tissues from human idiopathic fetal growth restriction. **Placenta**. v. 29, n. 9, p. 798-801, 2008.

Nakai, K. Multiple roles of macrophage in skin. **Journal of Dermatological Science**. v. 104, n. 1, p. 2-10, 2021.

Nathan C. Metchnikoff's Legacy in 2008. **Nature Immunology**. New York. v. 9, p. 695–698, jul 2008.

Nelson S., Matthews P., Poston L. Maternal metabolism and obesity: modifiable determinants of pregnancy outcome. **Hum Reprod Update**. v. 16, n. 3, p. 255-75, 2010.

O'Brien K., Wang Y. The Placenta: A Maternofetal Interface. **Annual Review of Nutrition**. v. 43, n. 1, p. 301–325, ago 2023.

Panagodimou E., Koika V., Markatos F. *et al.* Expression stability of ACTB, 18S, and GAPDH in human placental tissues from subjects with PCOS and controls: GAPDH expression is increased in PCOS. **Hormones**. v. 21, p. 329–333, 2022.

Pantham P., Aye I., Powell T. Inflammation in maternal obesity and gestational diabetes mellitus. **Placenta**. v. 36, n. 7, p. 709-15, jul 2015.

Prapas P., Anagnostouli M. Macrophages and HLA-Class II Alleles in Multiple Sclerosis: Insights in Therapeutic Dynamics. **Int. J. Mol. Sci**. v. 25, n. 13, jul 2024.

Purcu D., Korkmaz A., Gunalp S., Helvaci D., Erdal Y., Dogan Y. *et al.* Effect of stimulation time on the expression of human macrophage polarization markers. **PLoS ONE**. v.17, n. 3, mar 2022.

Rajakumar A., Kane M., Yu J. *et al.* Alternatively Activated Macrophages Are the Primary Retinoic Acid-Producing Cells in Human Decidua. **Reprod. Sci.** v. 27, p. 334–341, 2020.

Reyes L., Wolfe B., Golos T. Hofbauer Cells: Placental Macrophages of Fetal Origin. **Results Probl Cell Differ.** v.62, p. 45-60. 2017.

Rodríguez-Hernández H., Simental-Mendía L., Rodríguez-Ramírez G., Reyes-Romero M. Obesity and inflammation: epidemiology, risk factors, and markers of inflammation. **International journal of endocrinology**. Durango. v. 2013, n. 678159, abr 2013.

Röszer T. Understanding the Mysterious M2 Macrophage through Activation Markers and Effector Mechanisms. **Mediators of Inflammation**. Alemanha. v. 2015, n. 1, maio 2015.

Santangeli L., Sattar N., Huda S. Impact of Maternal Obesity on Perinatal and Childhood Outcomes. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**. Glasgow. v. 29, n. 3, p. 438-448, abr 2015.

Sarma S., Sockalingam S., Dash S. Obesity as a multisystem disease: Trends in obesity rates and obesity-related complications. **Diabetes Obes Metab.** v. 23, n. , p. 3–16, 2021.

Shimada S., Ebina Y., Iijima N., Deguchi M., Yamada H. Decidual CD68(+) HLA-DR(+) CD163(-) M1 macrophages increase in miscarriages with normal fetal chromosome. **Am. J. Reprod. Immunol.** v. 79, n. 2. 2018

Sreejit G., Fleetwood A., Murphy A., Nagareddy P. Origins and diversity of macrophages in health and disease. **Clin Transl Immunology**. Columbus. v.9, n. 12, p. 1222, dez 2020.

Sun F., Wang S., Du M. Functional regulation of decidual macrophages during pregnancy. **Journal of Reproductive Immunology**. Shanghai. v. 143, p. 103-264, 2021.

Sureshchandra S. *et al.* Multimodal profiling of term human decidua demonstrates immune adaptations with pregravid obesity. **Cell Reports**. v. 42, n. 7, p. 112769. 2023.

Svensson J., Mehta R., Lindau R. *et al.* The human fetal placenta promotes tolerance against the semiallogeneic fetus by inducing regulatory T cells and homeostatic M2 macrophages. **The Journal of Immunology**. v. 194, n. 4, p. 1534–1544, 2015.

Svensson J., Jenmalm M., Matussek A., Geffers R. , Berg G., Ernerudh J. Macrophages at the Fetal–Maternal Interface Express Markers of Alternative

Activation and Are Induced by M-CSF and IL-10. **J Immunol.** v. 187, n. 7, p. 3671–3682, out 2011.

Tarique A., Logan J., Thomas E., Holt P., Sly P., Fantino E. Phenotypic, functional, and plasticity features of classical and alternatively activated human macrophages. **Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.** v. 53, p. 676–688, 2015.

Tong L., Kalish B. The impact of maternal obesity on childhood neurodevelopment. **J Perinatol.** v. 41, n. 5, p. 928-939. 2021.

van Furth R., Cohn Z. The origin and kinetics of mononuclear phagocytes. **J Exp Med.** New York. v. 128, n. 3, p. 415-35, set 1968.

van Furth R., Cohn Z., Hirsch J., Humphrey J., Spector W., Langevoort H. The mononuclear phagocyte system: a new classification of macrophages, monocytes, and their precursor cells. **Bull World Health Organ.** v. 46, n. 6, p. 845-52, 1972.

Varol C., Mildner A., Jung S. Macrophages: development and tissue specialization. **Annu Rev Immunol.** v. 33, p. 643–675, 2015.

van Drongelen V., Scavuzzi B., Nogueira S. *et al.* HLA-DRB1 allelic epitopes that associate with autoimmune disease risk or protection activate reciprocal macrophage polarization. **Sci Rep.** v. 11, n. 2599, jan 2021.

Wang, L., Zhang S., Wu H., Rong X., Guo J. M2b macrophage polarization and its roles in diseases. **J Leukoc Biol.** v. 106, n. 2, p. 345-358, ago 2019.

Wynn T., Vannella K. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis. **Immunity.** v. 44, p. 450–462, 2016.

Yang M., McKay D., Pollard J., Lewis C. Diverse Functions of Macrophages in Different Tumor Microenvironments. **Cancer Res.** v. 78, n. 19, p. 5492–5503. 2018.

Yao Y., Xu X., Jin L. Macrophage Polarization in Physiological and Pathological Pregnancy. **Frontiers in Immunology.** Shanghai. v. 10, n. 792, abr 2019.

Zelinka-Khobzey M., Tarasenko K., Mamontova T., Shlykova O. Characteristics of CD68+ and CD163+ expression in placenta of women with preeclampsia and obesity. **Wiad Lek.** v. 74, p. 2152-2158, 2021.

Zhang Y., Ming H., Wang Y., Liao A. Modulators of the Balance between M1 and M2 Macrophages during Pregnancy. **Frontiers in Immunology.** v. 8. p. 1664-3224. 2017.

Zizzo G., Hilliard B., Monestier M., Cohen P. Efficient clearance of early apoptotic cells by human macrophages requires M2c polarization and MerTK induction. **Journal of Immunology.** v. 189, n. 7, p. 3508–3520, 2012.

ANEXOS

ANEXO A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Participação no estudo

A senhora está sendo convidada a participar da pesquisa intitulada “Relação entre a obesidade materna e a inflamação placentária na adiposidade do concepto” coordenada por Naiara Naiana DeJani. O objetivo deste estudo é investigar a relação entre o peso materno, a inflamação na placenta e o peso do recém-nascido. Caso você aceite participar, você terá que doar uma única vez uma amostra de 20mL de sangue que será coletada do braço da senhora antes do parto. Após o descolamento da placenta, uma amostra do sangue do cordão, aproximadamente 10mL, será coletado do cordão residual na placenta e também será coletado amostras do tecido da placenta, aproximadamente 10g. As coletas serão realizadas pelos pesquisadores deste estudo. O material será enviado para o laboratório Labimol, no Centro de Ciências Médicas da UFPB, será armazenado em geladeira por até 6 horas antes do processamento para a separação das células do sangue e da parte líquida do sangue (plasma), o plasma e as células serão congelados e armazenados em freezer, amostras da placenta também serão mantidas em freezer até serem processadas e realizadas as análises de quantificação de mediadores relacionados à inflamação e obesidade. Após as análises as amostras serão descartadas. Também será coletado o peso e a altura da senhora, usando uma balança digital com régua e dados do prontuário também serão coletados, sobre o uso de medicações, idade gestacional, resultados de exames de pré-natal e dados do recém-nascido, como peso, comprimento e perímetro cefálico. A senhora também responderá um questionário, que levará em torno de 15 minutos, sobre o seu estilo de vida, número de gestações, filhos e renda familiar.

Riscos e Benefícios

Com sua participação nesta pesquisa, a senhora estará exposta a um risco de desconforto no momento da coleta de sangue de seu braço, que poderá ficar com hematoma. A coleta de sangue do cordão umbilical e a coleta de tecido da placenta, só serão coletados após o descolamento da placenta e assim este procedimento não apresenta riscos para você e seu filho (a). A placenta é descartada após o parto, faremos a coleta do sangue do cordão

residual na placenta e do tecido da placenta quando ela já estiver fora do corpo da senhora, após terminarmos a coleta, a placenta restante será descartada no lixo hospitalar.

Durante a coleta de valores de peso, altura e aplicação do questionário aspectos desagradáveis sobre o tipo de parto, estado civil, número de partos e gestações, renda, escolaridade, detecção do valor de peso, poderão gerar constrangimento. Durante a coleta destes dados os pesquisadores estarão empenhados na preservação do constrangimento, tratando a senhora com respeito e discrição, os pesquisadores serão os únicos a ter acesso a esses dados e tomarão todas as providências necessárias para manter o sigilo.

O benefício indireto de sua participação nesta pesquisa é que contribuirá para que futuramente possamos compreender melhor como a obesidade gestacional afeta o ganho de peso e a resposta inflamatória no recém-nascido, e assim buscar possíveis intervenções que possam melhorar a saúde materna e do recém-nascido.

Sigilo, Anonimato e Privacidade

O material e informações obtidas podem ser publicados em aulas, congressos, eventos científicos, palestras ou periódicos científicos, sem sua identificação. Os pesquisadores se responsabilizam pela guarda e confidencialidade dos dados, bem como a não exposição individualizada dos dados da pesquisa. Sua participação é voluntária e a senhora terá a liberdade de se recusar a responder quaisquer questões que lhe ocasionem constrangimento de alguma natureza.

Autonomia

A senhora também poderá desistir da pesquisa a qualquer momento, sem que a recusa ou a desistência lhe acarrete qualquer prejuízo. É assegurada a assistência durante toda a pesquisa, e garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas

consequências. Se com a sua participação na pesquisa for detectado que você apresenta alguma condição que precise de tratamento, você receberá orientação da equipe de pesquisa, de forma a receber um atendimento especializado. A senhora também poderá entrar em contato com os pesquisadores, em qualquer etapa da pesquisa, por e-mail ou telefone, a partir dos contatos dos pesquisadores que constam no final do documento.

Devolutiva dos resultados

Os resultados da pesquisa poderão ser solicitados a partir de 2023, será enviado um e-mail para a senhora descrevendo os resultados obtidos na pesquisa. Ressalta-se que os dados coletados nesta pesquisa somente poderão ser utilizados para as finalidades da presente pesquisa, sendo que para novos objetivos um novo TCLE deve ser aplicado.

Ressarcimento e Indenização

Lembramos que sua participação é voluntária, o que significa que você não poderá ser pago, de nenhuma maneira, por participar desta pesquisa. De igual forma, a participação na pesquisa não implica em gastos a você. Se ocorrer algum dano decorrente da sua participação na pesquisa, você será indenizado, conforme determina a lei.

Após ser esclarecido sobre as informações da pesquisa, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine o consentimento de participação em todas as páginas e no campo previsto para o seu nome, que é impresso em duas vias, sendo que uma via ficará em posse do pesquisador responsável e a outra via com você.

Consentimento de Participação

Eu _____ concordo em participar, voluntariamente da pesquisa intitulada “Relação entre a obesidade materna e a inflamação placentária na adiposidade do concepto” conforme informações contidas neste TCLE.

Local e data:



Impressão
datiloscópica do
participante

Assinatura:

Pesquisador (a) responsável: Profa. Dra. Naiara Naiana Dejani

E-mail para contato: naiaradejani@gmail.com

Telefone para contato: (16) 997969340

Assinatura do (a) pesquisador (a) responsável:

Outros pesquisadores:

Nome: Prof. Dr. Eduardo Sérgio Soares Sousa

E-mail para contato: esergiosousa@uol.com.br

Telefone para contato: (83) 99814078

Assinatura do pesquisador :

O Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) é composto por um grupo de pessoas que estão trabalhando para garantir que seus direitos como participante sejam respeitados, sempre se pautando pelas Resoluções 466/12 e 510/16 do Conselho Nacional de Saúde (CNS). O CEP tem a obrigação de avaliar se a pesquisa foi planejada e se está sendo executada de forma ética. Caso você achar que a pesquisa não está sendo realizada da forma como você imaginou ou que está sendo prejudicado de alguma forma, você pode entrar em contato com o Contato do pesquisador responsável ou com o Comitê de Ética do Centro de Ciências Médicas

Endereço:- Centro de Ciências Médicas, 3º andar, Sala 14, Campus I - Cidade Universitária - Bairro Castelo Branco CEP: 58059-900 - João Pessoa-PB

Telefone: (083) 3216-7308

E-mail: comitedeetica@ccm.ufpb.br

ANEXO B

QUESTIONÁRIO		
1	Nº DO QUESTIONÁRIO:	DATA: ____/____/____
2	NOME DA MÃE:	
3	DATA DE NASCIMENTO DA GESTANTE: ____/____/____	
4	NATURALIDADE:	RESIDE EM:
5	Tipo de parto: (1) Cesárea (2) Vaginal	
6	Data da última menstruação: ____ ____ ____ ____ ____	
7	Peso pré-gestacional (Kg):	
8	Altura (cm):	
9	IMC pré gestacional:	
10	Peso atual:	
11	IMC atual:	
12	Idade gestacional do parto (em semanas gestacionais):	
13	Estilo de vida: Você fumava antes da gestação? (1) Sim (2) Não Consumo de bebida alcoólica antes da gestação? (1) Sim (2) Não Atividade Física. (1) Não (2) 1 vez na semana (3) 2 a 3 vezes na semana (4) Acima de 4 vezes na semana.	
14	Total do número de consultas durante o pré-natal: _____	
15	Quantas vezes você já engravidou? ____	
16	Quantos filhos (nascidos vivos) você teve até hoje? ____	
17	Você já teve abortos? ____ Se sim, quantas vezes? ____	
18	Você teve anteriormente natimorto? ____ Se sim, quantas vezes? ____	
19	Você já teve algum filho que morreu no período neonatal (primeiros 28 dias de vida)? ____ Se sim, quantos? ____	
20	Você já teve bebê prematuro? Se sim, quantos? _____	
21	Você apresentou hipertensão arterial antes da gestação atual? (1) Sim (2) Não	
22	Durante a gestação, você apresentou hipertensão arterial? (1) Sim (2) Não	
23	Antes da gestação, você apresentou diabetes mellitus? (1) Sim (2) Não	
24	O quadro de diabetes mellitus iniciou durante a gestação atual? (1) Sim (2) Não	
25	Você apresentou infecção urinária antes da gestação atual? (1) Sim (2) Não	

26	Atualmente você apresenta infecção urinária? (1) Sim (2) Não
27	Você utilizou medicações durante a gestação? (1) Sim (2) Não. Se sim, quais? _____
28	Bolsa rota? Se sim, data e horário _____
29	Data do parto, horário do nascimento _____
30	Intercorrência no parto? _____ Qual?
31	Placenta: (1) Normal (2) Anormal
32	Peso da placenta: _____
33	Se não pesou, qual o motivo? _____
34	Peso ao nascer: _____ Comprimento ao nascer _____
35	Comorbidade da paciente: _____