



INFLUÊNCIA DO TEMPO DE ALEITAMENTO MATERNO EXCLUSIVO NO EFEITO DO GENÓTIPO DE RISCO DO *FTO* rs9939609 EM MODELO RECESSIVO

GOUVEIA, A. M. A¹; MATOS, W. L²; NEUMANN, I.²; TODENDI, P. F³; REUTER, C. P⁴; VALIM, A. R. M⁵;

PALAVRAS-CHAVE: *Aleitamento Materno. Escolares. Obesidade. FTO. Polimorfismos.*

RESUMO

O leite materno é considerado pela comunidade científica um alimento completo, pois atende integralmente às necessidades nutricionais, metabólicas e imunológicas do lactente até os seis meses de vida. No entanto, os efeitos positivos sobre a saúde do lactente não se restringem ao período neonatal, à medida que os conhecimentos epigenéticos vinculam intrinsecamente os futuros padrões antropométricos e bioquímicos com o tempo de aleitamento materno exclusivo. Somado a isso, a obesidade é uma doença crônica multifatorial e poligênica que assola a saúde mundialmente. Essa conjuntura é preocupante pelo seu caráter epidêmico e por vincular-se intrinsecamente a graves disfunções metabólicas como dislipidemia, diabetes e hipertensão arterial sistêmica. Sabe-se que a carga genética é contribuinte para a suscetibilidade de desenvolvimento da obesidade, então, os Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNP) no gene *FTO* (*Fat mass obesity-associated*) revelam-se concatenados a alterações nos parâmetros antropométricos e bioquímicos. Contudo, o estudo, de caráter transversal, tentou avaliar se a amamentação e seus benefícios influenciariam o efeito do genótipo de risco do gene *FTO* e suas repercussões nos parâmetros antropométricos e bioquímicos de escolares. Assim, observou-se que a amamentação exclusiva por tempo ≤ 3 meses influencia significativamente o efeito da genotipagem da variante rs9939609 no gene e se diferencia entre os sexos na manifestação dos parâmetros antropométricos.

INFLUENCE OF EXCLUSIVE BREASTFEEDING TIME ON THE EFFECT OF *FTO* RISK ALLELE (rs9939609) IN RECESSIVE MODEL

KEYWORDS: *Breastfeeding. Schoolchildren. Obesity. FTO. Polymorphisms.*

ABSTRACT

ABSTRACT: Breastmilk is considered by the scientific community as a complete food because it meets the nutritional, metabolic and immunological needs of the infant up to six months of life. However, the positive effects on the health of the newborn aren't restricted to the neonatal period, as knowledge of epigenetic would intrinsically link future anthropometric and biochemical profiles with the time of exclusive breastfeeding. Furthermore, obesity is a chronic multifactorial and polygenic disease that plagues health worldwide. This situation is of concern for its epidemic character and for being intrinsically linked to serious metabolic dysfunctions such as dyslipidemia, diabetes and systemic arterial hypertension. It's known that the genetic load contributes to the susceptibility of the development of obesity, so the Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) in the *FTO* (*Fat mass obesity-associated*) gene are shown to be linked to changes in the anthropometric and biochemical parameters. However, the cross-sectional study attempted to evaluate whether breastfeeding and its benefits would influence the effect of the *FTO* gene risk gene and its repercussions on the anthropometric and biochemical parameters of schoolchildren. Thus, it was observed that exclusive breastfeeding for time ≤ 3 months significantly influences the effect of the genotype of variant rs9939609 on the gene and differentiates between the sexes in the manifestation of the anthropometric parameters.

¹ Acadêmica do Curso de Medicina na Universidade de Santa Cruz do Sul.

² Acadêmico do Curso de Farmácia na Universidade de Santa Cruz do Sul.

³ Doutora em Patologia, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.

⁴ Docente do Departamento de Educação Física e Saúde, Universidade de Santa Cruz do Sul.

⁵ Docente do Departamento de Biologia e Farmácia, Universidade de Santa Cruz do Sul <avalim@unisc.br>

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica multifatorial que assola a saúde pública mundial pela sua alta distribuição, prevalência e incidência (NG, M. et al., 2014). Em 2015, 107,7 milhões de crianças eram obesas e a prevalência da obesidade dobrou em mais de 70 países desde década de 80 (GBD 2015 OBESITY COLLABORATORS et al., 2017). Essa conjuntura é preocupante, pois a tessitura epidêmica da doença vincula-se intrinsecamente a graves disfunções metabólicas de vários espectros como dislipidemia, diabetes e hipertensão arterial sistêmica, que se inter-relacionam, se potencializam mutuamente e reverberam em todas as faixas etárias. No que tange à infância, o aumento da prevalência em idades cada vez mais precoces está associado à tendência da permanência até a idade adulta (JUONALA et al., 2011). Esse cenário é consoante, por conseguinte, ao caráter multifatorial e complexo da doença, uma vez que a carga genética é um fator contribuinte de 40 a 70% na suscetibilidade para o desenvolvimento da obesidade (LOOS, 2009; HERRERA et al., 2010). Sob essa premissa, então, os Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNP) no gene *FTO* (*Fat mass obesity-associated*) revelam-se concatenados a alterações nos parâmetros antropométricos e bioquímicos.

O leite materno é considerado pela comunidade científica coetânea um alimento completo, pois atende integralmente às necessidades nutricionais, metabólicas e imunológicas do lactente até os seis meses de vida. As diversas propriedades biológicas possuem um papel fundamental no estado nutricional, de crescimento e de desenvolvimento dos lactentes (FIGUEIREDO et al., 2004; LEVY; BÉRTOLO, 2012). A importância é tamanha que a Organização Mundial da Saúde preconiza que a criança seja amamentada ainda na sala de parto logo após o nascimento. Somado a isso, a amamentação na primeira hora de vida pode ser um fator de proteção contra mortes neonatais (EDMOND et al., 2006; BOCCOLINI et al., 2013). Contudo, os efeitos positivos sobre a saúde do recém-nascido não se restringem ao período neonatal, à medida que os conhecimentos hodiernos no âmbito da epigenética vinculam intrinsecamente os futuros padrões antropométricos e bioquímicos de escolares com aleitamento materno (HORTA et al., 2007; GIBSON et al., 2017).

Portanto, mediante o supracitado, o estudo intentou avaliar se a amamentação exclusiva e seus benefícios influenciaria no efeito do genótipo de risco do *FTO* (rs9939609) sobre os parâmetros antropométricos e bioquímicos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O ato de amamentar, apesar de ser determinado biologicamente, está condicionado a diversos fatores, entre estes, emocionais, socioculturais e anátomo-estruturais (CAMINHA, 2011). Essa conjuntura influencia na saúde da criança, pois a amamentação está correlacionada fortemente com as melhores condições de saúde infantil (KHAN et al., 2015; VICTORA et al., 2016). Portanto, uma evidência consolidada no âmbito científico da saúde é a elementar importância do aleitamento materno exclusivo (AME) para a sobrevivência, o crescimento e o desenvolvimento infantil, especialmente em países em desenvolvimento.

Sob essa premissa, a Organização Mundial da Saúde, visando melhorar as condições de saúde das crianças, promove estratégias de proteção, promoção e apoio ao aleitamento materno, como o início precoce da amamentação - se possível ainda na sala de parto - e a capacitação dos profissionais de saúde para o aconselhamento de mulheres acerca dessa prática. Essa iniciativa deve-se ao fato de que os benefícios do aleitamento materno se traduzem por menores riscos de episódios de diarreia (BROWN et al., 1989; POPKIN et al.,

1992; LAMBERTI et al., 2011; RITO et al., 2013), de infecções do trato respiratório (ALBERNAZ; MENEZES; CESAR, 2003; DIAS et al., 2010), de otites (TEELE; KLEIN; ROSNER, 1989; PASSANHA et al., 2010) e de alergias e predisposições atópicas (VAN ODIJK et al., 2003; SCHINCAGLIA et al., 2015). Ademais, o aleitamento materno apresenta benefícios para além do período de lactância como o risco diminuído de hipertensão arterial sistêmica, de níveis elevados de colesterol, de diabetes (HORTA et al., 2007; UMER et al., 2018) e, do risco de obesidade (DEWEY, 2003; HOWELL et al., 2014).

Visto isso, a definição de obesidade é o acúmulo de tecido adiposo em todo o corpo, causado por determinantes endógenos e exógenos (FISBERG, 1995). Contudo, a obesidade transcende o acúmulo de gordura corporal e o excesso de peso. A obesidade é uma doença complexa e de origem poligênica, ou seja, vários genes estão associados, então não podemos afirmar que apenas o *FTO* vai contribuir para o desenvolvimento da doença. Na medida que sua etiologia está embasada em diversos pilares, sendo estes, variados fatores sociais, culturais, psicológicos, físicos, neuroendócrinos e genéticos. Na obesidade infantil, as repercussões clínicas se perpetuam longitudinalmente, acarretando a longo prazo resistência à insulina, hiperglicemia, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia (SBP, 2012). Essas comorbidades crônicas não transmissíveis são potencialmente letais, pois possuem graves implicações cardiovasculares e endocrinológicas na vida adulta (MALTA, et al., 2014).

No tangente ao pilar genético que se relaciona com a predisposição à obesidade o gene *FTO* é de suma relevância, à medida em que possui alta expressão no núcleo arqueado do hipotálamo onde, interfere no controle da homeostase energética e conseqüentemente no acúmulo de gordura corporal (GERKEN et al., 2007; CHURCH et al., 2009). Ademais, observou-se que os SNPs no gene *FTO* seriam outro ponto de influência em relação ao risco de obesidade, dentre esses o alelo de risco (A) para a variante rs9939609 está intrinsecamente relacionada a um maior acúmulo de gordura corporal, sendo que os homozigotos AA apresentaram 22% mais chance de ter obesidade severa (DINA et al., 2007).

Diante disso, estudos sugerem que pelo menos 50% da tendência em desenvolver obesidade é herdada geneticamente (KIESS et al., 2000). Assim, julgando por essa propensão genética e pelas vastas comorbidades associadas à obesidade, faz-se necessário o pleno entendimento dessas variáveis e sua interação com fatores ambientais como a amamentação. Por fim, tendo em vista um olhar genético, averigua-se a possibilidade de a composição ímpar do leite materno mediar o processo de programação metabólica dos SNPs do gene *FTO*, conhecidamente elencados como fatores predisponentes à obesidade.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo e da amostra

O estudo, de caráter transversal, recrutou crianças e adolescentes de escolas públicas, municipais e particulares de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil. As coletas foram realizadas entre os anos de 2014 e 2015 e incluíram 593 crianças e adolescentes, com idades entre 7 e 17 anos. As amostras de sangue foram coletadas por um profissional autorizado e análises bioquímicas foram realizadas no mesmo dia da coleta. Alíquotas de sangue total anticoaguladas com EDTA foram armazenadas em ultrafreezer a -80 °C para posterior extração do DNA e genotipagem do SNP rs9939609.

O tamanho da amostra foi calculado usando a fórmula Nea Research Division (CHRISTENSEN, 2007): $s = X^2 NP (1-P) / d^2 (N-1) + X^2 P (1-P)$, onde “s” é o tamanho da amostra necessário, X^2 é o valor do qui-quadrado para

um grau de liberdade, N é o tamanho da população, P é a proporção da população e d é o grau de precisão expresso como uma proporção. Dos 20.380 alunos matriculados, o cálculo sugere que a amostra seja composta por 392 participantes, com erro de 5%. O estudo compreende um recorte da pesquisa intitulada como “SAÚDE DOS ESCOLARES – FASE III” aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC) sob protocolo n° 714.216/14. Ressalta-se que o estudo atende aos referenciais básicos da bioética, previstos na Resolução 466/2012, por meio de assinatura, em duas vias, do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos pais ou responsáveis e assinatura do Termo de Assentimento pelos escolares convidados a participarem da pesquisa.

A etnia do sul do Brasil é composta por uma população mista (PENA; BORTOLINI, 2004), assim, a variável cor da pele é baseada na autoclassificação.

3.2 Mensurações Clínicas

As medidas antropométricas de Circunferência da Cintura (CC), Índice de Massa Corpórea (IMC) e Percentual de Gordura (%G) foram aferidas. A mensuração da CC foi realizada através de fita métrica inelástica, utilizando como referência a parte mais estreita do tronco entre o rebordo costal e a crista ilíaca ântero-superior e o quadril no nível do trocânter maior do fêmur. A partir disso, por meio dos critérios postulados por Fernández et al. (2004), as medidas foram classificadas de acordo com sexo e idade, considerando, assim, circunferência normal percentil <75 e elevado com percentil ≥ 90 . O IMC foi classificado a partir das curvas de percentis da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2007), ponderando o sexo e idade do indivíduo, adotando baixo peso ($<p3$), normal ($\geq p3$ e $<p85$), sobrepeso ($\geq p85$ e $<p97$) e obesidade ($\geq p97$).

Para a determinação do %G utilizou-se uma bússola Lange® (Beta Technology Incorporated, Cambridge, EUA) para medir dobras cutâneas tricípital e subescapular, posteriormente aplicado à equação de Slaughter et al. (1988), subsequentemente, os resultados foram classificados de acordo com os dados de Lohman (1987) e estratificado em duas categorias: muito baixo/baixo/ótimo e moderadamente alto/alto/muito alto. As pressões arteriais sistólicas (PAS) e diastólicas (PAD) foram aferidas com o escolar em posição ergonômica sentada, após repouso, e utilizou-se um esfigmomanômetro calibrado, com um estetoscópio no braço direito. As pressões foram classificadas de acordo com os percentis de idade, gênero e altura considerando normal quando percentil <90 e risco percentil ≥ 90 (SBC; SBH; SBN, 2010). Os dados referentes ao tempo de aleitamento exclusivo (TAE) foram colhidos por intermédio de questionário respondidos pelos pais ou responsáveis dos escolares.

A matriz biológica utilizada para as análises bioquímicas foi o plasma. Colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL-c), triglicerídeos (TG) e glicose (GLI) foram medidos usando kits comerciais Kovalent (BioSys Ltda, Niterói, Brasil) com um equipamento Miura One (ISE, Roma, Itália). O colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) foi calculado usando a equação de Friedewald et al. (1972). Os valores de CT, LDL-C e TG foram classificados como normais e elevados, e os valores de HDL-C foram classificados como normal e baixo seguindo critérios clínicos aceitos (NHLBI, 2012). A glicose foi considerada normal a ≤ 99 mg/dL e elevada quando variou de 100 a 125 mg/dL (ADA, 2011).

3.3 Análise molecular do gene *fto*

Para extração do DNA utilizou-se 500µL de cada amostra de sangue total anticoagulada com EDTA, através do método de *Salting-out*, conforme descrito por Miller, Dykes e Polesky (1988). O DNA isolado foi quantificado

usando uma unidade espectrofotométrica NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, Wilmington, EUA). O SNP rs9939609 do gene *FTO* foi genotipado através de reação em cadeia da polimerase em tempo real utilizando o equipamento *StepOne Plus®* (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). Os ensaios *FTO* rs9939609 C_30090620_10 e Master Mix PCR Universal foram adquiridos da Applied Biosystems (Foster City, CA, USA). As análises supracitadas foram realizadas no laboratório de Genética e Biotecnologia, Bloco 20, da Universidade de Santa Cruz do Sul.

3.4 Análise dos dados

Os dados estatísticos foram analisados utilizando o programa SPSS v.20. As variáveis contínuas foram expressas como a média (\pm desvio padrão) e mediana (intervalo interquartil). O teste de qui-quadrado foi utilizado para verificar se as frequências alélicas e genótípicas eram as esperadas com base na previsão de equilíbrio de Hardy-Weinberg. A normalidade de distribuição foi analisada pelo teste Kolmogorov-Smirnov (K-S). Utilizou-se os testes Mann-Whitney e ANOVA para comparar medianas (variáveis não-paramétricas) e médias (variáveis paramétricas), respectivamente. Foi utilizado o teste UNIANOVA, ajustado por sexo e idade, para avaliar a influência da amamentação no efeito do alelo de risco do *FTO* nos parâmetros antropométricos e clínicos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A amostra, exposta na Tabela 1, é composta predominantemente por adolescentes (74,4%) do sexo feminino (52,8%) e com mediana de idade de 12 anos (IIQ: 9,0-14,0). A cor da pele autodeclarada mais frequente foi a branca (77,7%), seguidas por parda ou mulata (14,0%) e negra (6,9%), destaca-se, nesse cenário, a presença de colonização germânica na região em estudo (FILHO; MONASTERIO, 2012). Salienta-se que a distribuição genotípica do SNP rs9939609, tabela 2, encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$).

Tabela 1. Caracterização da Amostra

Variáveis	Total	Sexo		p
		Feminino	Masculino	
Idade (anos)	12,0 (9,0-14,0)	12,0 (10,0-14,0)	12,0 (9,0-14,0)	0,184
TAE (meses)	4,0 (3,0-6,0)	4,0 (3,0-6,0)	4,0 (3,0-6,0)	0,826
IMC (kg/m ²)	19,43 (17,05-22,12)	19,85 (17,27-22,48)	19,19 (17,04-21,69)	0,120
CC (cm)	65,0 (59,0-71,10)	65,0 (59,60-70,95)	65,05 (59,0-72,0)	0,326
%G (%)	18,91 (13,87-25,56)	22,63 (18,08-26,75)	14,81 (11,81-20,40)	<0,001*
PAS (mmHg)	105,0 (98,0-112,5)	105,0 (95,0-110,0)	105,0 (100,0-120,0)	0,479
PAD (mmHg)	60,0 (60,0-70,0)	60,0 (60,0-70,0)	60,0 (60,0-70,0)	0,945
CT (mg/dL)	158,37 (\pm 32,80)	161,30 (\pm 33,69)	155,10 (\pm 31,53)	0,022*
HDL-c (mg/dL)	63,03 (\pm 11,36)	61,65 (\pm 10,87)	64,57 (\pm 11,72)	0,002*
LDL-c (mg/dL)	80,59 (62,27-96,30)	83,54 (67,62-97,46)	60,90 (41,55-77,30)	0,003*
TG (mg/dL)	64,35 (47,70-85,65)	68,05 (50,90-92,25)	60,90 (41,55-77,30)	<0,001*

GLI (mg/dL)	89,00 (82,00-95,00)	87,00 (81,00-95,00)	90,00 (85,00-96,00)	0,007*
-------------	---------------------	---------------------	---------------------	--------

ANOVA e Mann-Whitney. Dados expressos em média (desvio padrão) e mediana (intervalo interquartil). *resultados significativos $p < 0,05$. Abreviações: TAE (Tempo de Aleitamento Exclusivo), IMC (índice de massa corpórea), CC (circunferência da cintura), %G (percentual de gordura), PAS (pressão arterial sistólica), PAD (pressão arterial diastólica), CT (colesterol total), TG (triglicerídeos), GLI (glicose).

A prevalência de sobrepeso e obesidade na população estudada foi de 32,0%, sendo mais elevada no sexo masculino (33,9%) que no feminino (30,4%). Estratificando a amostra por sexo, observou-se que a mediana de %G no sexo feminino de 22,63% (IIQ: 18,08-26,75) foi superior à do sexo masculino, que obteve mediana de 14,81% (IIQ: 11,81-20,40; $p < 0,001$). Quanto ao perfil lipídico, CT, LDL-c e TG foram mais elevados no sexo feminino, com médias e medianas de 161,30 mg/dL ($\pm 33,69$; $p = 0,022$), 83,54 mg/dL (IIQ: 67,62-97,46, $p = 0,003$) e 68,05 mg/dL (IIQ: 50,90-92,25; $p < 0,001$), respectivamente. HDL-c, por sua vez, se apresentou inferior nas meninas, com média de 61,65 mg/dL ($\pm 10,87$), se comparado aos meninos (64,57 mg/dL $\pm 11,72$; $p = 0,003$). Por outro lado, a glicemia apresentou maior mediana no sexo masculino (90,0 mg/dL; IIQ: 85,0-96,0; $p = 0,007$) que no feminino (87,0 mg/dL; IIQ: 81,0-95,0).

Em paralelo, Todendi et al (2018) encontraram em uma população similar composta por 1442 escolares, sendo que 76,5% são adolescentes e 56,2% de mulheres, com média de 11,9 anos, as frequências de 23,0% dos indivíduos com sobrepeso e 18,0% com obesidade. Estudo realizado por Reach et al. (2010) na região serrana do estado do Rio Grande do Sul entre 7 e 12 anos e divisão igualitária entre os sexos observou as prevalências de obesidade e sobrepeso de 8,0% e 19,9%, respectivamente, sendo que não foi encontrada diferença estatística significativa para obesidade e sobrepeso entre meninos e meninas ($p = 0,594$). Pelegrini et al (2010), em seu estudo realizado com 2.913 escolares brasileiros de 7 a 9 anos, determinaram a prevalência de sobrepeso de 15,4% e obesidade de 7,8% com proporções similares entre sexo e idade. Contudo, é válido ressaltar que este estudo salientou a prevalência de obesidade maior nas crianças da região Sul. Portanto, os dados do presente estudo mostram que as prevalências de obesidade e sobrepeso encontradas são maiores que as dos estudos prévios supracitados, diferindo ainda em comparação aos sexos.

Tabela 2. Equilíbrio de Hardy-Weinberg para o rs9939609

	Frequência observada n = 593 (%)	Frequência esperada n = 593 (%)	p
FTO rs9939609			0,811
TT	241 (40,6)	245 (41,3)	
AT	280 (47,2)	272 (45,9)	
AA	72 (12,1)	75 (12,7)	
T	768 (64,25)		
A	424 (35,75)		

Hardy-Weinberg ($p > 0,05$). Teste de qui-quadrado.

É conhecido e amplamente relatado na literatura científica que a presença do alelo A no SNP rs9939609 do gene *FTO*, sobretudo do genótipo AA, está relacionada à elevação de parâmetros antropométricos (FIELD et al., 2007; BERENTZEN et al., 2008; YANG, et al., 2014; REUTER et al., 2016). Diante disso, um estudo realizado na Europa, por Frayling et al. (2007), com uma amostra de 38.759 indivíduos encontrou uma frequência de 16% de indivíduos homocigotos A, sendo que este grupo alélico apresentou um risco 20% e 30% maior de apresentar

sobrepeso e obesidade, respectivamente. Contudo, resultados diferentes foram encontrados em populações de ilhas oceânicas do pacífico, na qual não foi encontrada nenhuma relação entre os alelos AA, AT ou TT com a presença de obesidade (OHASHI et al., 2007). Essa conjuntura demonstra uma influência étnica deste alelo, pois em sujeitos de etnia não-caucasiana seu efeito foi menos expressivo. Estudos observaram, ainda, que o alelo de risco A apresenta correlação positiva com aumento da CC em comparação com o alelo T e com o IMC (AL-ALTAR et al., 2008; BO et al., 2010; YANG et al., 2014). No presente estudo também observamos tal relação entre os portadores do genótipo AA e os maiores valores para CC (69,16 cm \pm 13,53) se comparados aos demais genótipos (65,98 cm \pm 9,92; $p=0,028$), não encontrando, entretanto, relação significativa entre o SNP e o IMC.

Neste estudo, observamos uma influência do tempo de aleitamento sobre o efeito do genótipo de risco do SNP rs9939609 no perfil antropométrico. Conforme o demonstrado na Tabela 3, no grupo de indivíduos que receberam amamentação exclusiva por tempo superior a 3 meses não houve qualquer influência significativa do genótipo AA nos parâmetros avaliados. Entretanto, nos indivíduos com TAE igual ou inferior a 3 meses, o SNP em questão se associou à elevação do %G e da CC (Figura 1B e 1C). Portadores do genótipo AA com TAE \leq 3 meses apresentaram médias de CC e %G de 71,51cm (\pm 15,94) e 23,54% (\pm 8,64), sendo superiores às médias em portadores dos demais genótipos: 67,02 cm (\pm 9,97; $p=0,032$) e 19,99% (\pm 7,54; $p=0,021$), respectivamente. Observou-se também uma elevação do IMC nos portadores do genótipo AA (Figura 1A), sobretudo naqueles com TAE \leq 3 meses, entretanto essa relação não se mostrou estatisticamente significativa.

Tabela 3. Influência do tempo de aleitamento exclusivo no efeito do alelo de risco do FTO (rs9939609) em modelo recessivo.

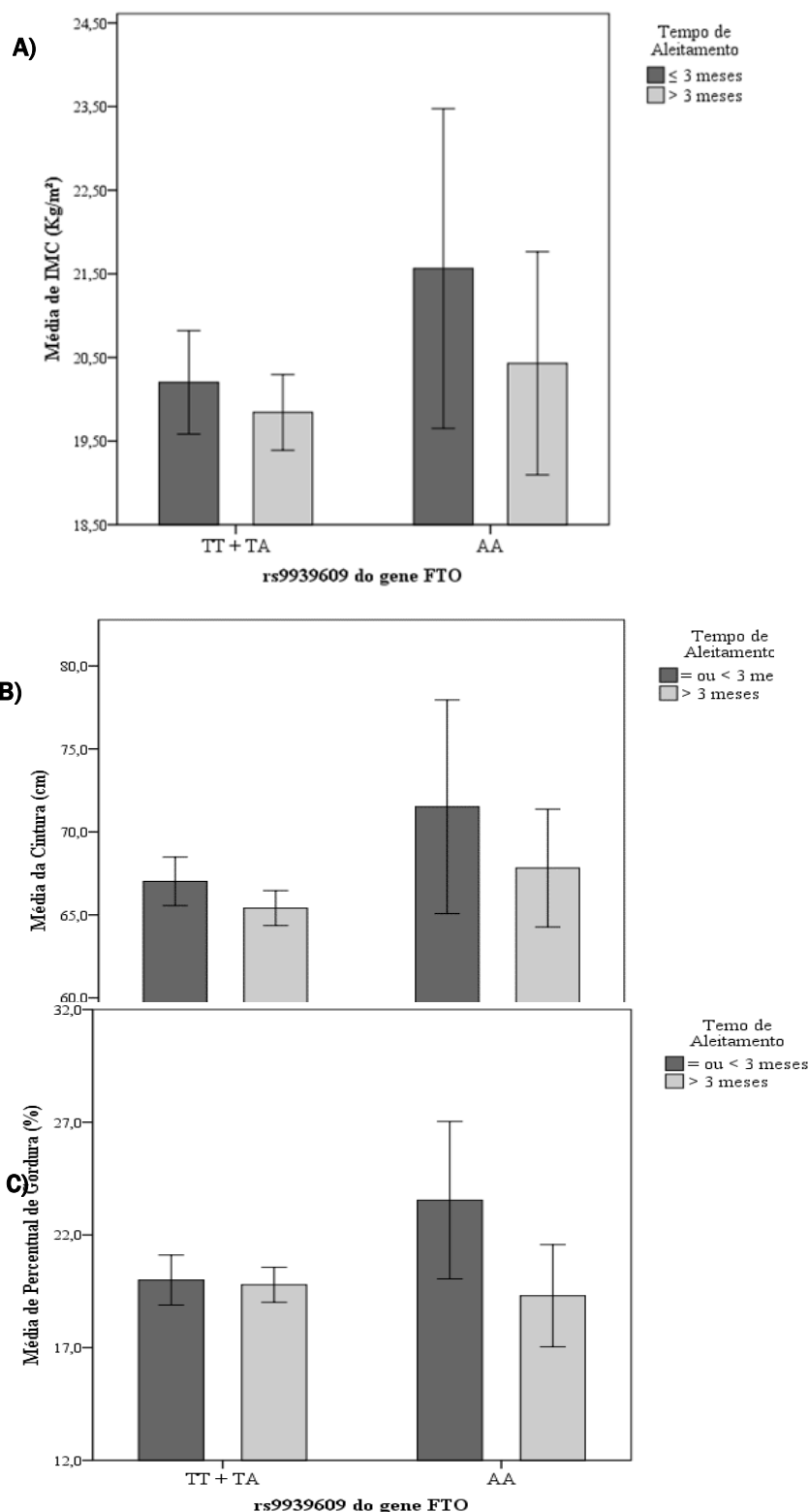
Variáveis	Tempo de Aleitamento					
	\leq 3 meses		p	$>$ 3 meses		p
	TT + AT	AA		TT + AT	AA	
IMC (kg/m ²)	20,20 (\pm 4,22)	21,56 (\pm 4,73)	0,115	19,85 (\pm 4,24)	20,43 (\pm 4,49)	0,700
CC (cm)	67,02 (\pm 9,97)	71,51 (\pm 15,94)	0,032*	65,42 (\pm 9,86)	67,82 (\pm 11,95)	0,421
%G (%)	19,99 (\pm 7,54)	23,54 (\pm 8,64)	0,021*	19,77 (\pm 7,28)	19,30 (\pm 7,63)	0,724
PAS (mmHg)	107,67 (\pm 15,18)	111,92 (\pm 13,42)	0,104	104,53 (\pm 14,39)	107,07 (\pm 14,62)	0,605
PAD (mmHg)	64,85 (\pm 11,52)	68,85 (11,67)	0,071	64,26 (\pm 10,62)	66,30 (\pm 11,08)	0,507
CT (mg/dL)	158,70 (\pm 34,37)	155,23 (\pm 28,96)	0,628	158,90 (\pm 32,29)	154,89 (\pm 32,97)	0,397
HDL-c (mg/dL)	62,50 (\pm 11,70)	62,34 (\pm 12,46)	0,965	63,64 (\pm 10,98)	61,02 (\pm 12,18)	0,155
LDL-c (mg/dL)	82,06 (\pm 29,71)	76,96 (25,81)	0,417	81,56 (\pm 28,03)	80,35 (\pm 27,15)	0,751
TG (mg/dL)	70,15 (\pm 33,54)	73,75 (\pm 35,17)	0,638	69,85 (\pm 31,66)	67,65 (\pm 31,36)	0,481

GLI (mg/dL)	89,63 (±19,36)	90,77 (±7,99)	0,720	88,98 (±11,03)	87,85 (±13,58)	0,291
-------------	-------------------	------------------	-------	-------------------	-------------------	-------

UNIANOVA ajustado por sexo e idade. Dados expressos em média (desvio padrão) e mediana (intervalo interquartil). *resultados significativos p<0,05.

Abreviações: TAE (Tempo de Aleitamento Exclusivo), IMC (índice de massa corpórea), CC (circunferência da cintura), %G (percentual de gordura), PAS (pressão arterial sistólica), PAD (pressão arterial diastólica), CT (colesterol total), TG (triglicerídeos), GLI (glicose).

Figura 1. Influência do tempo de aleitamento exclusivo no efeito do genótipo de risco do *FTO* (rs9939609).

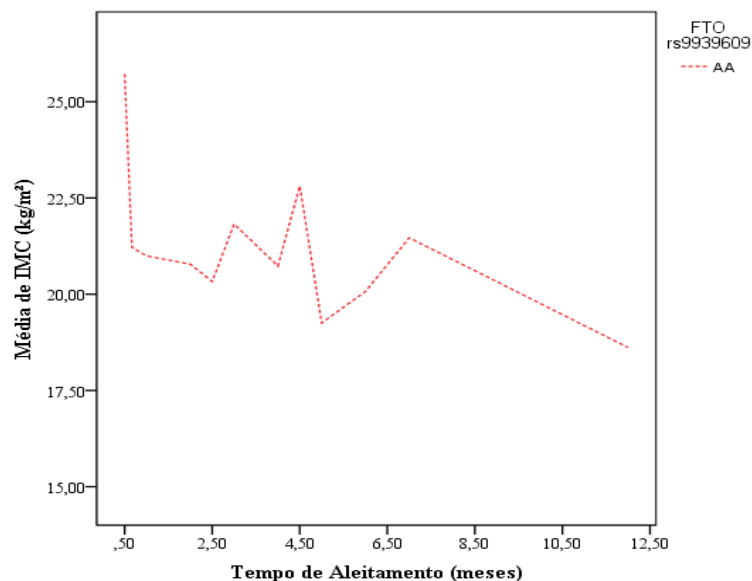


A influência do SNP rs9939609 na elevação dos parâmetros de adiposidade, incluindo crianças e adolescentes, já é consolidada na literatura (FIELD et al., 2007; BERENTZEN et al., 2008; YANG, et al., 2014; REUTER et al., 2016). Paralelo a isso, o aleitamento materno também conhecidamente garante benefícios à nutrição do lactente e, segundo Koletzko et al (2009), reduz de 20-25% dos riscos de desenvolver obesidade. Sob essa conjuntura, este estudo mostra uma associação significativa no qual um curto período de aleitamento influenciaria o risco de obesidade em crianças. Da mesma forma, observou-se no presente estudo, conforme demonstrado na Figura 2, que nos indivíduos portadores do genótipo de risco, homozigotos AA, apresentam uma tendência a menores médias de IMC à medida em que se aumenta o TAE.

Corroborando com nossos achados, Abarin et al (2012) encontraram uma associação entre o aumento do IMC e a duração do TAE entre os portadores do alelo de risco do SNP rs9939609 no gene *FTO*. Eles observaram que nas meninas o TAE pode reverter o aumento do IMC em decorrência do alelo de risco (A) aos 14 anos, quando o TAE é superior a 3 meses. Já nos meninos, encontraram que o aleitamento reduz o IMC tanto nos portadores quanto nos não portadores do alelo de risco, com uma associação encontrada após os 10 anos de idade. Ademais, os autores constataram que seis meses de aleitamento exclusivo colocam as curvas de crescimento do IMC dos meninos dentro do parâmetro de normalidade. Também reforçando nossos resultados, Dedoussis et al (2011), em duas coortes gregas pediátricas independentes, evidenciaram que a inclusão de um mês de aleitamento materno efetivamente removeu associações entre o SNP e os índices de obesidade (IMC, relação cintura-quadril e prega cutânea subescapular).

Somado a isso, mais recentemente, Wu, Lye e Briollais (2017) observaram que o AME atua como antagonista ao alelo de risco rs9939609 no *FTO* e atua na redução futura do IMC. Os autores observaram que a redução prevista do IMC aos 15 anos de idade, após 5 meses de amamentação exclusiva, é de 0,56 kg/m² (com 95% de intervalo de confiança, IC; 0,11-1,01; $p=0,003$) e 1,14 kg/m² (IC 95% 0,67-1,62; $p<0,0001$) no sexo feminino e masculino, respectivamente.

Figura 2. IMC por meses de amamentação estratificado por genótipo do rs9939609.



5 CONCLUSÃO

Em suma, o estudo fornece novas perspectivas sobre a influência do aleitamento materno nos parâmetros de adiposidade em escolares portadores do genótipo de risco para a variante rs9939609 do gene *FTO*. Observou-se nesse estudo que portadores do genótipo AA que receberam aleitamento materno exclusivo por tempo ≤ 3 meses apresentaram médias de CC e %G superiores às médias em portadores dos demais genótipos, logo, estando mais susceptíveis ao desenvolvimento de obesidade. Ademais, nossos dados sugerem que nos portadores do genótipo de risco exista uma relação inversamente proporcional entre o TAE e o IMC, que não se reproduziu nos demais genótipos.

AGRADECIMENTOS

A gratulação ímpar dedicamos à Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), à prof^a. Miria Suzana Burgos (*In memoriam*) e ao Acadêmico de Medicina da Universidade Federal de Sergipe Lucas Reis Oliveira. Por fim, agradecemos aos escolares, seus pais, e aos demais envolvidos na pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ABARIN, T. et al. The impact of breastfeeding on *FTO*-related BMI growth trajectories: an application to the Raine pregnancy cohort study. *International Journal of Epidemiology*, v. 41, n. November, p. 1650–1660, 2012.
- ALBERNAZ, E. P.; MENEZES, A. M.; CESAR, J. A. Fatores de risco associados à hospitalização por bronquiolite aguda no período pós-natal. *Rev. Saúde Pública*, [S.l.], v. 37, p. 37, 2003.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). *Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Diabetes Care, Arlington, v. 34, p. 62-9, 2011.
- BERENTZEN, T. et al. Lack of Association of Fatness-Related *FTO* Gene Variants with Energy Expenditure or Physical Activity. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 93, n. 7, p. 2904–2908, 2008.
- BOCCOLINI, C. S. et al. Breastfeeding during the first hour of life and neonatal mortality. *Jornal de Pediatria*, v. 89, n. 2, p. 131–136, 2013.
- BROWN, K. H. et al. Infant-feeding practices and their relationship with diarrheal and other diseases in Huascar (Lima), Peru. *Pediatrics*, [S.l.], v. 83, p. 31-40, 1989.
- CAMINHA, M. DE F. C. et al. Aleitamento materno exclusivo entre profissionais de um Programa Saúde da Família. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 16, n. 4, p. 2245–2250, 2011.
- CHRISTENSEN, Larry B. *Experimental methodology*. 10^o ed. Boston: Allyn/Bacon, 2007.
- CHURCH, C. et al. A mouse model for the metabolic effects of the human fat mass and obesity associated *FTO* gene. *PLoS Genet*, v. 5, n. 8, p. e1000599, Aug 2009.
- DAYA, M. et al. Obesity risk and preference for high dietary fat intake are determined by *FTO* rs9939609 gene polymorphism in selected Indonesian adults. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, v. 28, n. 1, p. 183–191, 2019.
- DEDOUSSIS, G. V. Z. et al. Does a short breastfeeding period protect from *FTO*-induced adiposity in children? *International Journal of Pediatric Obesity*, v. 6, p. 326–335, 2011.

- DEWEY, K. G. Is breastfeeding protective against child obesity? *J. Hum. Lact.*, [S.l.], v. 1, p. 19: 9-18, 2003.
- DIAS, M. C. A. P.; et al. Recomendações para alimentação complementar de crianças menores de dois anos. *Revista Nutrição, Campinas*, v.23, n.3, p. 475-486, Mai./Jun. 2010.
- DINA, C. et al. Variation in *FTO* contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nat Genet*, v. 39, n. 6, p. 724-6, Jun 2007.
- EDMOND, K. M. et al. Delayed breastfeeding initiation increases risk of neonatal mortality. *Pediatrics*, [S.l.], v. 117, p. 380-6, mar. 2006.
- ENES, C. C.; SLATER, B. Obesidade na adolescência e seus principais fatores determinantes. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 13, n. 1, p. 163-171, 2010.
- EGGER, G. et al. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*, v. 429, n. 6990, p. 457-63, May 2004.
- FERNÁNDEZ, J. R. et al. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents. *The Journal of Pediatrics*, Cincinnati, v. 145, n. 4, p. 439-444, 2004.
- FIELD, S. F. et al. Analysis of the obesity gene *FTO* in 14,803 type 1 diabetes cases and controls. *Diabetologia*, v. 50, n. 10, p. 2218-20, Oct 2007.
- FIGUEIREDO, M.G., SARTORELLI, D.S., ZAN, T. A. B., GARCIA, E., SILVA, L. C., CARVALHO, F. L. et al. Inquérito de avaliação rápida das práticas de alimentação infantil em São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*. p. 172-179, 2004.
- FISBERG, Mauro. *Obesidade na Infância e Adolescência*. 1º ed. São Paulo: Fundação BYK, 1995.
- FRAYLING, T. M. et al. A Common Variant in the *FTO* Gene Is Associated with Body Mass Index and Predisposes to Childhood and Adult Obesity. *Science*, Washington DC, v. 316, n. 5826, p. 889-894, maio 2007.
- FREATHY, R. M. et al. Common Variation in the *FTO* Gene Alters Diabetes-Related Metabolic Traits to the Extent Expected Given Its Effect on BMI. *Diabetes*, v. 57, n. 5, p. 1419-1426, 2008.
- FRIEDEWALD W. T., LEVY R. I., FREDRICKSON D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.*, v. 18, p. 499-502, 1972.
- GBD 2015 OBESITY COLLABORATORS. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Year. *The New England Journal of Medicine*, Waltham, v. 377, n. 1, p. 13-27, Jul. 2017.
- GERKEN, T. et al. The obesity-associated *FTO* gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. *Science*, v. 318, n. 5855, p. 1469-72, Nov 2007.
- GIBSON, L. A. et al. The effects of breastfeeding on childhood BMI: a propensity score matching approach. *Journal of Public Health*, v. 39, n. 4, p. 152-160, 2017.
- HORTA, B. L. et al. *Evidence on the long-term effects of breastfeeding: systematic reviews and meta-analyses*. Geneva: World Health Organization, 2007.
- HOWELL, E. A. et al. An intervention to extend breastfeeding among black and Latina mothers after delivery. *Am. J. Obstet. Gynecol.* Baltimore, v.210, p.239.e1-5, Mar. 2014
- JUONALA, M. et al. Childhood Adiposity, Adult Adiposity, and Cardiovascular Risk Factors. *The New England Journal of Medicine*, Waltham, v. 365, p. 1876-1885, nov. 2011.
- KHAN, J. et al. Timing of Breastfeeding Initiation and Exclusivity of Breastfeeding During the First Month of Life: Effects on Neonatal Mortality and Morbidity — A Systematic Review and Meta-analysis. *Maternal and Child Health Journal*, v. 19, n. 3, p. 468-479, 2015.

- KIESS, W. et al. Clinical aspects of obesity in childhood and adolescence. *Obes Rev*, v. 2, n. 1, p. 29-36, Feb 2001.
- KOLETZKO, B. et al. Can infant feeding choices modulate later obesity risk? *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 89, n. 5, p. 1502-1508, 2009.
- LAMBERTI, L. M. et al. Breastfeeding and the risk for diarrhea morbidity and mortality. *BMC Public Health*, v. 11, n. Suppl 3, p. 1-12, 2011.
- LEVY, L.; BÉRTOLO, H. *Manual de Aleitamento Materno*. Lisboa: Jorge Fernandes, Lda, 2012.
- LOHMAN, Timothy. The use of skinfold to estimate body fatness on children and youth. *Journal of Physical Education, Recreation e Dance, London*, v. 58, n. 9, p. 98-102, 1987.
- LOOS, R. J. F. Recent progress in the genetics of common obesity. *British Journal of Clinical Pharmacology, Schenectady*, v. 68, n. 6, p. 811-29, 2009.
- MALTA, D. C. et al. Mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis no Brasil e suas regiões, 2000 a 2011. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 23, n. 4, p. 599-608, 2014.
- MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research, Oxford*, v. 16, n. 3, p. 1215, 1988.
- NATIONAL HEART, LUNG, AND BLOOD INSTITUTE (NHLBI). NHLBI Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents. NIH Publication. 2012.
- NG, M. et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet, London*, v. 384, n. 9945, p. 766-81, Aug 2014.
- PASSANHA, A.; et al. Elementos protetores do leite materno na prevenção de doenças gastrointestinais e respiratórias. *Rev. Bras. Crescimento e Desenvol. Hum.*, São Paulo, v. 20, n. 2, p.351-360, Ago, 2010.
- PENA, S. D. J.; BORTOLINI, M. C. Pode a genética definir quem deve se beneficiar das cotas universitárias e demais ações afirmativas? *Estudos Avançados*, v. 18, n. 50, p. 31-50, 2004.
- POPKIN, B. M. et al. Breast-feeding and diarrheal morbidity. *Pediatrics*, [S.l.], v. 86, p. 874-82, 1990.
- PRAY, Leslie A. Epigenetics: Genome Meet your environment. *The Scientist*, p. 14-20, 5 July 2004.
- REUTER, C. P. et al. Association between overweight and obesity in schoolchildren with rs9939609 polymorphism (FTO) and family history for obesity. *Jornal de Pediatria*, v. 92, n. 5, p. 493-498, 2016.
- RITO, R. V. V. F.; et al. Degree of compliance with the ten steps of the Breastfeeding Friendly Primary Care Initiative and its association with the prevalence of exclusive breastfeeding. *Jornal de Pediatria*. Rio de Janeiro, v.89, n.5, p. 477-84. Jul, 2013.
- SCHINCAGLIA, R.M. et al. Práticas alimentares e fatores associados à introdução precoce da alimentação complementar entre crianças menores de seis meses na região noroeste de Goiânia. *Epidemiol. Serv. Saúde* vol.24 n.3 Brasília, 2015.
- SLAUGHTER, M. H. et al. Skinfold equations for estimation of body fatness in children and youth. *Human Biology, Washington*, v. 60, n. 5, p. 709-723, 1988.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA (SBC), SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO (SBH), SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA (SBN). VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol.*, São Paulo, v. 95, n. 1 supl.1, p. 1-51, 2010.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA (SBP). *Manual de orientação do departamento de nutrição: alimentação do lactente ao adolescente, alimentação na escola, alimentação saudável e vínculo mãe-filho, alimentação saudável e prevenção de doenças, segurança alimentar*. 3ª ed. Rio de Janeiro: SBP, 2012.

TEELE, D. W.; KLEIN, J. O.; ROSNER, B. Epidemiology of otitis media during the first seven years of life in children in greater Boston: a prospective, cohort study. *J. Infect. Dis.*, [S.l.], v. 160, p. 83-94, 1989.

UMER, Amna et al. Association Between Breastfeeding and Childhood Cardiovascular Disease Risk Factors. *Maternal and Child Health Journal*, [s. l.], 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10995-018-2641-8>>. Acesso em: 21 jun. 2019.

VAN ODIJK, J. et al. Breastfeeding and allergic disease: a multidisciplinary review of the literature (1966-2001) on the mode of early feeding in infancy and its impact on later atopic manifestations. *Allergy*, [S.l.], v. 58, p. 833-43, 2003.

VICTORA, C. G. et al. Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *The Lancet*, v. 387, p. 475-490, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Global strategy on infant and young child feeding*. Geneva: WHO; 2003.

WU, Y. Y.; LYE, S.; BRIOLLAIS, L. The role of early life growth development, the FTO gene and exclusive breastfeeding on child BMI trajectories. *International Journal of Epidemiology*, v. 46, n. 5, p. 1512-1522, 2017.

XI, B. et al. The common rs9939609 variant of the fat mass and obesity-associated gene is associated with obesity risk in children and adolescents of Beijing, China. *BMC Medical Genetics*, v. 11, n. 107, p. 8, 2010.

YADAV, M.; AKOBENG, A. K.; THOMAS, A. G. Breast-feeding and childhood obesity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, v. 30, n. 3, p. 345-6, Mar 2000.

YANG, M. et al. The Effects of Genetic Variation in FTO rs9939609 on Obesity and Dietary Preferences in Chinese Han Children and Adolescents. *PLOS One*, v. 9, n. 8, p. 1-9, 2014.

YANG, Y. et al. Combined effect of FTO and MC4R gene polymorphisms on obesity in children and adolescents in Northwest China: a case-control study. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, v. 28, n. 1, p. 177-182, 2019.