

PERÍODOS CRÍTICOS PARA O DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE: PERSPETIVAS DA EPIGENÉTICA

Leitão RB^{1,II}, Neves L^{1,II}

Resumo

Os fatores nutricionais e de atividade física são considerados os determinantes proximais mais importantes na génese da obesidade. No entanto, a compreensão da variabilidade interindividual no risco desta patologia, perante pressões obesogénicas idênticas, exige uma abordagem que vai para além do estilo de vida. No presente artigo de revisão analisa-se o corpo crescente de conhecimentos sobre a epigenética que, enquanto mecanismo de interação gene-ambiente, contribui para uma melhor compreensão da programação desenvolvimental e da predisposição para a obesidade. Destacam-se evidências que permitem reconhecer períodos críticos para o desenvolvimento da obesidade ao longo do crescimento, sendo que, especificamente para o primeiro destes períodos, o perinatal, este risco está descrito quer para a exposição in utero a sobre-nutrição, como a subnutrição. Assumindo-se a plasticidade do desenvolvimento, os efeitos do desequilíbrio energético gerado pela pressão ambiental serão distintos entre os períodos considerados e dependentes da suscetibilidade genética e epigenética de cada indivíduo. Daqui sobressai a complexidade etiológica da obesidade, bem como a necessidade de progressos na investigação que respondam a desafios como o do emergir desta patologia nos países em rápida transição nutricional. Seremos então capazes de ajudar pais e crianças a mudar certos comportamentos e “exposições” durante períodos críticos do desenvolvimento, e dessa forma alterar a predisposição (epi)genética individual?

Palavras-chave:

Período crítico; Desenvolvimento; Obesidade; Epigenética.

Abstract

Nutritional and physical activity factors are considered the most important proximal determinants in obesity genesis. However, understanding the interindividual variability in the risk of this condition, under the same obesogenic pressures, requires an approach that goes beyond lifestyle. In this review article we analyse the growing body of knowledge about epigenetics that, being a gene-environment interaction mechanism, contributes to a better understanding of developmental programming and predisposition to obesity. We highlight evidence that allow the recognition of critical periods for the development of obesity during growth. Specifically for the first of these periods, the perinatal period, this risk is described for both in utero exposure to overnutrition and undernutrition. Assuming the plasticity of development, the effects of energy imbalance generated by environmental pressure will be different between the periods considered and dependent on the genetic and epigenetic susceptibility of each individual. These issues point to the complexity of obesity aetiology as well as to the need for research progress that can respond to challenges such as the emergence of this disease in countries undergoing rapid nutrition transition. Will we then be able to help parents and children to change certain behaviours and “exposures” during critical periods of development and thus change the individual (epi)genetic predisposition?

Keywords:

Critical period; Development; Obesity; Epigenetics.

¹ Escola Superior de Educação do Instituto Politécnico de Viana do Castelo (ESE-IPVC).

^{II} Centro de Investigação em Estudos da Criança (CIEC).

raquel.leitao@ese.ipvc.pt

OS CONCEITOS DE *PERÍODO CRÍTICO* E *PROGRAMAÇÃO DESENVOLVIMENTAL*

O conceito de período crítico tem na sua origem a ideia de que uma experiência específica num dado momento da vida de um organismo pode afetar o seu desenvolvimento de uma forma mais marcada do que se esta tivesse ocorrido noutra momento¹. Ou seja, durante um período crítico, em comparação com outra fase da vida, um organismo será mais sensível a certos estímulos ambientais.

Reconhecendo-se o uso multidisciplinar do termo “período crítico”², importa denotar que mesmo na perspetiva biológica lhe estão inerentes as especificidades do nível considerado. Assim, em embriologia, períodos críticos referem-se geralmente a períodos limitados no desenvolvimento, durante os quais é possível induzir grupos de células indiferenciadas a diferenciarem-se. Em neurobiologia, períodos críticos são aqueles em que os circuitos neurais são particularmente plásticos e sujeitos a modelação por processos celulares e pela experiência. Já o conceito de período crítico etológico avança a ideia de que as características comportamentais de um indivíduo podem ser mais fortemente influenciadas por um determinado evento (estímulo) numa dada fase do desenvolvimento do que noutras³.

Na década de noventa, a biologia do desenvolvimento e também a epidemiologia do ciclo de vida ganham novo ímpeto com a formulação da *Hipótese da Origem Fetal das Doenças do Adulto*, na forma abreviada, *Hipótese da origem fetal*⁴, que atribui às perturbações do crescimento e desenvolvimento intrauterino a origem de várias das principais doenças da vida adulta. Desde então, e com contributos de valor científico inestimável, a proposta pioneira de David Barker abriu caminho para a vasta investigação que levou à enunciação da *Hipótese da Programação Fetal* na sua forma contemporânea. A evolução do corpo de conhecimentos nesta área estimulou também, e em articulação, o aprofundamento do significado de período crítico e o emergir do consenso científico de que condições no início do desenvolvimento, até mesmo *in utero*, podem deixar marcas duradouras na fisiologia de um organismo, marcas essas que irão influenciar a suscetibilidade a doenças que podem vir a manifestar-se a longo prazo^{2,5}.

A referida relação é atualmente conceptualizada como *Hipótese da Programação Desenvolvimental*, que assenta no pressuposto das influências ambientais durante períodos críticos de plasticidade do desenvolvimento poderem provocar efeitos vitalícios sobre a saúde e o bem-estar dos descendentes⁶. Tal como descrito na literatura estas experiências iniciais poderão afetar a saúde na idade adulta através de duas formas - ora por danos cumulativos ao longo do tempo, ora pela incorporação biológica das adversidades durante períodos sensíveis do desenvolvimento, sendo que em ambos os casos pode haver um desfasamento de muitos anos, até mesmo décadas, até que essas experiências adversas se expressem de forma patológica⁷. Estas doenças poderão ser assim consequência do fenómeno de “programação”, descrito como o processo pelo qual um estímulo ou agressão num período sensível ou crítico do desenvolvimento, na fase inicial da vida, tem efeitos permanentes sobre a estrutura, fisiologia e metabolismo⁵. Assim, e considerando-se o período pré-natal, o feto responderá a agressões mediante o referido processo de programação, o que terá vantagens para a sobrevivência a curto prazo, mas que, a longo prazo, se pode tornar desvantajoso na medida em que se associa a doenças crónicas⁸. Na análise do conceito de período crítico sob a perspetiva da epidemiologia do ciclo de vida, importa ainda considerar a plausibilidade de um sistema biologicamente comprometido somente resultar em patologia com a subsequente adição de outros fatores de *stress* fisiológico ou metabólico⁹. Esta ideia, que questiona a irreversibilidade dos efeitos da programação está na base da conceptualização do *Modelo do Período Crítico com Modificadores de Efeito Tardios*. Como a própria designação sugere, esta versão alargada do Modelo do Período Crítico, enfatiza a hipótese das exposições no início da vida interagirem com as da vida adulta, o que tanto pode aumentar como diminuir o risco de doenças crónicas na vida futura, como são as cardiovasculares, a hipertensão, a diabetes tipo 2 ou a obesidade¹⁰.

PERÍODOS CRÍTICOS PARA O DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE

Especificamente para a obesidade, estão descritas fases do desenvolvimento e crescimento, caracterizadas por alterações fisiológicas que aumentam o seu risco e tendência de persistência¹¹. Estes períodos críticos são (1) o perinatal, (2) o ressalto adipocitário, e (3) a puberdade/adolescência^{11,12}.

1 - Período perinatal

O período perinatal, que inclui a fase pré-natal (desenvolvimento fetal) e a pós-natal (1º ano de vida), está reconhecido por ser fortemente influenciado por fatores ambientais envolvidos na programação de mecanismos adaptativos que podem permanecer ao longo da vida e aumentar a probabilidade de um indivíduo se tornar obeso¹³⁻¹⁵.

Uma vez que constitui um importante indicador das condições do desenvolvimento pré-natal, o peso à nascença tem sido uma das características somáticas mais investigadas a respeito desta relação. Não excluindo a influência de fatores genéticos sobre o crescimento ponderal, os resultados da investigação epidemiológica têm vindo a sugerir que a malnutrição materna, quer a sobrenutrição, quer a subnutrição, bem como o ambiente nutricional pós-natal, constituem preditores do desenvolvimento futuro de obesidade^{15,16}. Efetivamente, está descrito que tanto as crianças que nascem com baixo peso (<2500g) como as que nascem com peso elevado (>4000g) apresentam risco acrescido de desenvolver esta patologia^{17,18}. Contudo, dois estudos distintos baseados na metodologia de revisão sistemática e meta-análise indicaram uma relação entre o peso excessivo à nascença e o maior risco de desenvolvimento de obesidade, associação que não se constatou para o baixo peso à nascença^{19,20}. Na mesma linha de evidências, num estudo que envolveu 4845 crianças portuguesas verificou-se uma associação significativa entre o ganho de peso excessivo durante a gravidez (≥ 16 kg) e o risco de excesso de peso na infância²¹, relação essa que se pode constatar logo aos 3 anos de idade²². Resultados recentes do *Health Start Study*²³ confirmam os anteriores, apoiando a hipótese de que o ganho de peso durante a gravidez, independentemente do IMC pré-gestacional da mãe, está diretamente relacionado com a adiposidade do filho à nascença.

Como referido anteriormente, também o 1º ano de vida é considerado uma fase de vulnerabilidade para o desenvolvimento futuro de obesidade. De forma consistente com investigação prévia^{24,25}, os autores do *The Generation R Study*, que envolveu 6267 lactentes holandeses, observaram uma associação positiva entre a velocidade do ganho ponderal nos primeiros meses de vida e o risco de excesso de peso e obesidade aos 4 anos de idade²⁶. Entre os fatores dietéticos alvo de especial atenção, pela sua potencial influência sobre os padrões de crescimento ao longo do 1º ano de vida, destaca-se o aleitamento materno. O efeito protetor que demonstra contra o desenvolvimento da obesidade na infância tem sido sistematicamente demonstrado em inúmeros estudos epidemiológicos²⁷.

Em concordância, tal como indicam os resultados da meta-análise de vários estudos observacionais, as crianças que são amamentadas, quando comparadas com as alimentadas através de fórmulas para lactentes, apresentam uma redução de 20% na probabilidade de serem obesas na idade escolar²⁸. Esta associação poderá ser explicada pelo facto de a amamentação induzir níveis plasmáticos de insulina mais baixos e, conseqüentemente, reduzir a reserva adiposa e prevenir o desenvolvimento adipocitário precoce²⁹. Por outro lado, de acordo com os autores supracitados, o teor proteico mais elevado das fórmulas para lactentes, em comparação com o do leite materno, é responsável pela taxa de crescimento e adiposidade aumentadas durante o período de influência no qual os lactentes são alimentados com recurso a leite artificial.

Muito embora não se revele uma associação consistente na investigação epidemiológica, a ingestão elevada de proteínas, em fases distintas ao longo dos 2 primeiros anos de vida, tem sido sugerida como possível causa do adiantamento do ressalto adipocitário³⁰, que constitui, ele próprio, e como previamente referido, um período crítico para o desenvolvimento futuro de obesidade.

2 - Ressalto adipocitário

Ao longo do crescimento, a variação fisiológica do índice de massa corporal (IMC) caracteriza-se por um aumento rápido no 1º ano de vida, seguido de uma diminuição que atinge um mínimo por volta dos 5-6 anos de idade. Este ponto mínimo da curva que antecede o início do segundo aumento do IMC designa-se por “ressalto adipocitário” ou por “ressalto do IMC”, numa aplicação mais precisa do termo³¹. Vários estudos tem demonstrado que as crianças que atingem mais cedo o ressalto adipocitário apresentam risco acrescido de desenvolverem obesidade em idade escolar, na adolescência ou na idade adulta, sendo que para esta última fase, está também

descrita a maior probabilidade de surgimento de diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares^{14,31}. Recentemente, os resultados de um estudo longitudinal de base populacional revelaram que o ressalto adipocitário precoce (<4 anos de idade) se associou a um IMC mais elevado aos 20 anos, mas mais inquietantes foram as evidências de que logo aos 12 anos, esse adiantamento se traduziu num fenótipo lipoproteico representativo de insulinoresistência³². Na mesma linha de evidências, os resultados do *Growth and Obesity Chilean Cohort Study* (GOCS), apontam o ressalto adipocitário adiantado (<5 anos de idade) como preditor de risco metabólico aumentado ainda mais cedo – aos 7 anos³³.

De forma contraintuitiva, no padrão tipicamente associado ao ressalto adipocitário precoce verifica-se um IMC baixo, seguido de um aumento a seguir ao ressalto. A baixa adiposidade anterior ao ressalto sugere a possibilidade de um *deficit* energético numa fase inicial do crescimento que pode ser atribuída ao elevado teor proteico e baixo teor lipídico da dieta dos lactentes numa fase de elevadas necessidades de energia. A primeira das referidas características nutricionais desencadeará a velocidade de crescimento estatural e a última diminuirá a densidade energética da alimentação, resultando na redução da ingestão de energia¹⁴. Note-se que na constituição do leite materno, os referidos nutrientes apresentam-se de modo inverso, ou seja, o conteúdo proteico é baixo e o lipídico é elevado, o que, de acordo com o autor supra citado, poderá contribuir para os efeitos benéficos do leite humano sobre o crescimento. Considerando a possibilidade de outros fatores ambientais modificáveis, para além da alimentação, influenciarem o *timing* do ressalto adipocitário, importa sublinhar que está a ser testada a eficácia de uma intervenção que visa prevenir a obesidade em crianças de idade pré-escolar e melhorar a sua aptidão física durante o referido período. A decorrer na vizinha Espanha, este estudo, o MOVI-KIDS, conta com a colaboração de investigadores portugueses do Centro de Investigação em Atividade Física, Saúde e Lazer da Faculdade de Desporto da Universidade do Porto³⁴. Ainda na perspetiva da prevenção, refira-se que apesar de estar por demonstrar o seu efeito em humanos, estudos com animais sugerem que intervenções preventivas da obesidade durante períodos críticos ou sensíveis do desenvolvimento podem ter efeitos mais significativos e prolongados¹², o que tem estimulado o interesse da comunidade científica em relação a estas fases do crescimento e desenvolvimento.

3 - Adolescência/puberdade

Marcada por alterações fisiológicas, psicológicas, sociais e comportamentais, fortemente dependentes do sexo, a adolescência está descrita como o 3º período crítico associado a risco aumentado de obesidade¹¹. Especificamente para a adiposidade, se as mudanças seguirem o padrão típico desta fase, verifica-se um aumento da percentagem de massa gorda (%MG) nas raparigas, até cerca dos 17 anos de idade, ao contrário do que ocorre nos rapazes nos quais se observa uma diminuição da %MG a partir dos 13 anos, que atinge um mínimo por volta dos 15 anos de idade. Adicionalmente, dá-se um aumento do dispêndio energético, seguido de uma tendência de diminuição desse gasto após a puberdade, sendo o primeiro aspeto mais acentuado nos rapazes e o segundo nas raparigas. Muito embora as raparigas sejam menos ativas do que os rapazes³⁵, deve considerar-se que as diferenças de sexo no gasto energético podem estar relacionadas com mecanismos biológicos de conservação de energia, para além dos aspetos comportamentais³⁶. Conjuntamente com outros fatores, como a precocidade pubertária³⁷, estas características poderão contribuir para a maior vulnerabilidade ao desenvolvimento da obesidade que se observa nas raparigas³⁸. Efetivamente, tal como descrito há quase 3 décadas atrás¹¹, também num estudo longitudinal envolvendo crianças portuguesas, ambos os padrões de incidência e reversão da obesidade na adolescência revelaram ser desfavoráveis para as raparigas³⁹.

EPIGENÉTICA E OBESIDADE

Apesar de a obesidade estar descrita pela Organização Mundial de Saúde como uma doença multifatorial, não há uma compreensão clara quanto aos fatores implicados na sua génese, à sua preponderância, à forma como interagem, bem quanto ao modo pelo qual operam nos períodos críticos anteriormente referidos. Os fatores genéticos e os fatores ambientais, com destaque para a alimentação e a atividade física, são considerados as causas mais plausíveis desta patologia^{40,41}, mas a nível populacional nenhum dos dois referidos grupos de fato-

res explicam, por si só, a origem da obesidade. Por um lado, no que diz respeito aos fatores genéticos, apesar da recente identificação de vários *loci* relacionados com a obesidade ou com o IMC, as variantes identificadas explicam apenas uma pequena proporção da hereditariedade da obesidade⁴², não justificando o aumento da prevalência da doença nas últimas décadas. Por outro lado, a compreensão da variabilidade interindividual no risco de desenvolvimento desta patologia, perante pressões obesogénicas idênticas, exige uma abordagem que vai para além do estilo de vida. Entenda-se que o termo “obesogénico”, tal como revisto por Skinner et al.⁴³ se refere a todos os fatores ambientais e compostos dietéticos, farmacêuticos e industriais que têm um papel potencial no desenvolvimento da obesidade, pela influência sobre o número e/ou tamanho dos adipócitos, sobre as hormonas reguladoras do apetite e saciedade, bem como sobre as preferências alimentares e o metabolismo energético.

A busca de repostas para esta questão remete-nos novamente para a *Hipótese da Programação Desenvolvimental* que, como referido anteriormente, estabelece uma relação entre as alterações ambientais durante períodos críticos de plasticidade do desenvolvimento e o risco aumentado para várias doenças futuras, como a obesidade. Ora os avanços científicos dos últimos anos indicam que este fenómeno, a *programação desenvolvimental*, poderá ter uma base epigenética, o que, como se pretende destacar, pode ajudar na compreensão das limitações atrás sugeridas em relação às causas da obesidade e ao seu padrão de desenvolvimento.

Historicamente, o termo *epigenética*, derivado do prefixo grego “epi”, e que significa “acima de” ou “para além de”, é atribuído a Conrad Waddington (1905-75) que em 1942 o usou para descrever a “ponte” entre o genótipo e o fenótipo durante o desenvolvimento⁴⁴. Enquanto campo relativamente recente da biologia, a epigenética consiste no estudo da forma como as influências ambientais precoces afetam a expressão genética, e por fim, o crescimento, o desenvolvimento, e o risco de doenças, sem modificarem a subjacente sequência do ADN⁴⁵. Estas modificações funcionais do genoma, designadas por alterações epigenéticas, têm como base molecular subjacente sobretudo processos de metilação do ADN, modificação de histonas e regulação do microRNA, que poderão assim constituir uma “memória” das condições ambientais no início da vida^{46,47}. O mais estudado e melhor compreendido dos referidos processos epigenéticos, a metilação do ADN, foi analisado no estudo científico que ficou reconhecido como pioneiro no apoio à hipótese de que, em humanos, as condições ambientais no início da vida podem causar alterações epigenéticas que persistem ao longo da vida⁴⁸. Na referida investigação, foi demonstrado que os indivíduos expostos a subnutrição no período pré-natal (*in utero*) durante o “Inverno da Fome Holandês” (1944-45) apresentavam, 6 décadas depois, um menor grau de metilação num segmento de ADN, o gene IGF2, em comparação com os irmãos do mesmo sexo, concebidos já posteriormente ao período da fome. A associação encontrada foi específica para o período de exposição periconcepcional, reforçando a fase inicial do desenvolvimento dos mamíferos como um período crucial para o estabelecimento e manutenção de marcas epigenéticas. A importância do papel destas marcas na regulação da expressão genética, algo amplamente aceite, reforça o seu contributo para a determinação do fenótipo de organismos multicelulares, ideia concordante com a “hipótese da origem fetal” proposta por David Barker, e descrita anteriormente.

Para além disso, dada a relativa estabilidade de parte destas marcas epigenéticas, induzidas pelo ambiente, é plausível pressupor a sua transmissão aos descendentes, o que consequentemente atribui à programação epigenética o estatuto de fenómeno transgeracional^{49,50}. Dito por outras palavras, no conceito de herança epigenética transgeracional está implícito que os efeitos do ambiente numa geração podem influenciar o fenótipo das gerações subsequentes, ideia que até certo ponto reabilita o Lamarckismo. Nesta análise, importa porém sublinhar que sendo certa a influência dos fatores ambientais na expressão dos genes, ainda não existe um corpo de conhecimentos que permita compreender a extensão e o impacto deste cariz hereditário das alterações epigenéticas⁴⁴. Não está igualmente esclarecido se os marcadores epigenéticos alterados na obesidade constituem uma causa ou uma consequência da acumulação excessiva de gordura⁵¹.

O ambiente nutricional *in utero* tem sido alvo de grande interesse no âmbito da epigenética, em particular na investigação do risco de desenvolvimento de obesidade⁵². No entanto, para além da nutrição, existem potencialmente outros fatores, como por exemplo os disruptores endócrinos, que interferem no metabolismo energético através de mecanismos epigenéticos⁴³, e que poderão atuar não somente nesta fase mas também ao longo dos restantes períodos considerados críticos para esta patologia. Ainda que numa fase inicial, vários investiga-

dores têm procurado compreender a forma pela qual as alterações epigenéticas continuam a regular o risco de obesidade desde a infância e ao longo da vida⁵³. Assumindo-se a plasticidade do desenvolvimento, os efeitos da exposição ao desequilíbrio energético gerado pela pressão ambiental serão variáveis em cada um dos períodos referidos, o perinatal, o ressalto adipocitário e a adolescência/puberdade, e irão depender de ambas a suscetibilidade genética e epigenética de cada indivíduo. Assim, as modificações epigenéticas, quer as decorrentes das influências ambientais nos períodos críticos, em particular *in utero*, quer as de origem transgeracional, podem ajudar a explicar o intrigante facto comumente observado: perante um padrão alimentar e de atividade física semelhante há indivíduos que desenvolvem obesidade e outros não. Com a maior facilidade atual na realização de “estudos de associação epigenômica ampla” (EWAS- epigenome-wide association studies)⁵⁴ perspectiva-se uma melhor compreensão das bases epigenéticas da programação desenvolvimental, do modo pelo qual estes efeitos poderão ser transmitidos ao longo das gerações e ainda a identificação de associações entre padrões epigenéticos e risco de doenças metabólicas como a obesidade⁵⁵. No conjunto, estes avanços constituirão um contributo fundamental para melhorar a eficácia da prevenção e tratamento desta patologia.

CONCLUSÕES

Enquanto mecanismo de interação gene-ambiente, a epigenética tem sido alvo de grande interesse pelo seu potencial papel na suscetibilidade à obesidade. Tanto estudos com humanos como a investigação animal têm sugerido que a relação entre a exposição nutricional perinatal e o risco futuro de obesidade pode ser mediada por alterações epigenéticas. Espera-se que o progresso desta crescente área da biologia contribua para uma melhor compreensão do referido período, bem como do ressalto adipocitário e da adolescência/puberdade, não somente por representarem fases do crescimento associadas a maior vulnerabilidade à obesidade, mas também porque poderão constituir “janelas de oportunidade” para intervenções de prevenção ou tratamento deste problema de saúde pública.

REFERÊNCIAS

- 1 Colombo J. The critical period concept: Research, methodological, and theoretical issues. *Psychol Bull.* 1982;91:260-75.
- 2 Ellison PT. Fetal programming and fetal psychology. *Infant Child Dev.* 2010;19(1):6-20.
- 3 Browman HI. Embryology, Ethology and Ecology of Ontogenetic Critical Periods in Fish. *Brain Behav Evol.* 1989;34(1):5-12.
- 4 Barker DJ. The fetal and infant origins of disease. *Eur J Clin Invest* 1995;25(7):457-63.
- 5 Godfrey KM, Barker DJ. Fetal nutrition and adult disease. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(5):1344s-52s.
- 6 Vickers MH. Early life nutrition, epigenetics and programming of later life disease. *Nutrients.* 2014;6(6):2165-78.
- 7 Shonkoff JP, Boyce W, McEwen BS. Neuroscience, molecular biology, and the childhood roots of health disparities: Building a new framework for health promotion and disease prevention. *JAMA.* 2009;301(21):2252-59.
- 8 Cameron N, Demerath EW. Critical periods in human growth and their relationship to diseases of aging. *Am J Phys Anthropol.* 2002;35:159-84.
- 9 Ben-Shlomo Y, Kuh D. A life course approach to chronic disease epidemiology: conceptual models, empirical challenges and interdisciplinary perspectives. *Int J Epidemiol.* 2002;31(2):285-93.
- 10 Mishra GD, Cooper R, Kuh D. A life course approach to reproductive health: Theory and methods. *Maturitas.* 2010;65(2):92-97.
- 11 Dietz WH. Periods of risk in childhood for the development of adult obesity—what do we need to learn? *J Nutr.* 1997;127(9):1884-86.
- 12 Lawlor DA, Chaturvedi N. Treatment and prevention of obesity - are there critical periods for intervention? *Int J Epidemiol.* 2006;35:3-9.
- 13 Guilloteau P, Zabielski R, Hammon HM, Metges CC. Adverse effects of nutritional programming during prenatal and early postnatal life, some aspects of regulation and potential prevention and treatments. *J Physiol Pharmacol.* 2009;3:17-35.
- 14 Rolland-Cachera MF, Deheeger M, Maillot M, Bellisle F. Early adiposity rebound: causes and consequences for obesity in children and adults. *Int J Obes.* 2006;30:S11-S17.
- 15 Spencer SJ. Early life programming of obesity: the impact of the perinatal environment on the development of obesity and metabolic dysfunction in the offspring. *Curr Diabetes Rev.* 2012;8(1):55-68.
- 16 Gluckman P, Hanson M, Cooper C, Thornburg K. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *New Engl J Med.* 2008;359:61-70.
- 17 Stout SA, Espel EV, Sandman CA, Glynn LM, Davis EP. Fetal programming of children's obesity risk. *Psychoneuroendocrinology.* 2015;53:29-39.

- 18 Moschonis G, Grammatikaki E, Manios Y. Perinatal predictors of overweight at infancy and preschool childhood: the GENISIS study. *Int J Obes.* 2008;32:39-47.
- 19 Schellong K, Schulz S, Harder T, Plagemann A. Birth weight and long-term overweight risk: systematic review and a meta-analysis including 643,902 persons from 66 studies and 26 countries globally. *PLoS One.* 2012;7(10): e47776. doi:10.1371/journal.pone.0047776
- 20 Yu ZB, Han SP, Zhu GZ, Zhu C, Wang XJ, Cao XG, et al. Birth weight and subsequent risk of obesity: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2011;12(7):525-42.
- 21 Moreira P, Padez C, Mourão-Carvalho I, Rosado V. Maternal weight gain during pregnancy and overweight in Portuguese children. *Int J Obes.* 2007;31(4):608-14.
- 22 Okens E, Taveras EM, Kleinman KP, Rich-Edwards JW, Gillman MW. Gestational weight gain during pregnancy and child adiposity at age 3 years. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196(4):322.e1-322.e8. doi:10.1016/j.ajog.2006.11.027.
- 23 Starling AP, Brinton JT, Glueck DH, Shapiro AL, Harrod CS, Lynch AM, et al. Associations of maternal BMI and gestational weight gain with neonatal adiposity in the Healthy Start study. *Am J Clin Nutr.* 2015;101(2):302-9.
- 24 Ong KK, Ahmed ML, Emmett PM, Preece MA, Dunger DB. Association between postnatal catch-up growth and obesity in childhood: prospective cohort study. *BMJ.* 2000;320:967-71.
- 25 Stettler N. Nature and strength of epidemiological evidence for origins of childhood and adulthood obesity in the first year of life. *Int J Obes.* 2007;31:1035-43.
- 26 Mook-Kanamori DO, Durmus B, Sovio U, Hofman A, Raat H, Steegers EA, et al. Fetal and infant growth and the risk of obesity during early childhood: the Generation R Study. *Eur J Endocrinol.* 2011;165(4):623-30.
- 27 Yan J, Liu L, Zhu Y, Huang G, Wang PP. The association between breastfeeding and childhood obesity: a meta-analysis. *BMC Public Health.* 2014;14(1267):1471-2458.
- 28 Koletzko B, von Kries R, Monasterolo RC, Subias JE, Scaglioni S, Giovannini M, et al. Infant feeding and later obesity risk. *Adv Exp Med Biol.* 2009;646:15-29.
- 29 Oddy WH, Mori TA, Huang RC, Marsh JA, Pennell CE, Chivers PT, et al. Early infant feeding and adiposity risk: from infancy to adulthood. *Ann Nutr Metab.* 2014;64(3-4):262-70.
- 30 Günther AL, Buyken AE, Kroke A. Protein intake during the period of complementary feeding and early childhood and the association with body mass index and percentage body fat at 7 y of age. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(6):1626-33.
- 31 Williams SM, Goulding A. Patterns of Growth Associated With the Timing of Adiposity Rebound. *Obesity.* 2009;17(2):335-41.
- 32 Koyama S, Ichikawa G, Kojima M, Shimura N, Sairenchi T, Arisaka O. Adiposity Rebound and the Development of Metabolic Syndrome. *Pediatrics.* 2014;133(1):e114-9. doi: 10.1542/peds.2013-0966.
- 33 Gonzalez L, Corvalan C, Pereira A, Kain J, Garmendia ML, Uauy R. Early adiposity rebound is associated with metabolic risk in 7-year-old children. *Int J Obes.* 2014;38(10):1299-304.
- 34 Martínez-Vizcaino V, Mota J, Solera-Martínez M, Notario-Pacheco B, Arias-Palencia N, García-Prieto J, et al. Rationale and methods of a randomised cross-over cluster trial to assess the effectiveness of MOVI-KIDS on preventing obesity in pre-schoolers. *BMC Public Health.* 2015;15(1):1-9.
- 35 Spencer RA, Rehman L, Kirk S. Understanding gender norms, nutrition, and physical activity in adolescent girls: a scoping review. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2015;12(1):1-10.
- 36 Goran MI, Gower BA, Nagy TR, Johnson RK. Developmental changes in energy expenditure and physical activity in children: evidence for a decline in physical activity in girls before puberty. *Pediatrics.* 1998;101:887-91.
- 37 Leitão R, Rodrigues LP, Neves L, Carvalho GS. Development of adiposity, obesity and age at menarche: an 8-year follow-up study in Portuguese schoolgirls. *Int J Adolesc Med Health.* 2013;25(1):55-63.
- 38 Frelut ML, Flodmark CE. The obese adolescent. In: Burniat W, Cole T, Lissau I, Poskitt E, editors. *Child and adolescent obesity: causes and consequences, prevention and management.* Cambridge: Cambridge University Press; 2002. Chap. 8, pp. 154-170.
- 39 Leitão R, Rodrigues LP, Neves L, Carvalho GS. Changes in adiposity status from childhood to adolescence: a 6-year longitudinal study in Portuguese boys and girls. *Ann Hum Biol.* 2011;38(4):520-8.
- 40 Bouchard C. Defining the genetic architecture of the predisposition to obesity: a challenging but not insurmountable task. *Am J Clin Nutr.* 2010;91:5-6.
- 41 Musani SK, Erickson S, Allison DB. Obesity-still highly heritable after all these years. *Am J Clin Nutr.* 2008;87:275-76.
- 42 Huang T, Hu F. Gene-environment interactions and obesity: recent developments and future directions. *BMC Med Genomics.* 2015;8(Suppl1):S2. doi:10.1186/1755-8794-8-S1-S2
- 43 Skinner MK, Manikkam M, Guerrero-Bosagna C. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors. *Reprod Toxicol.* 2011;31(3):337-43.
- 44 Heard E, Martienssen Robert A. Transgenerational Epigenetic Inheritance: Myths and Mechanisms. *Cell.* 2014;157(1):95-109.
- 45 Rhee KE, Phelan S, McCaffery J. Early Determinants of Obesity: Genetic, Epigenetic, and In Utero Influences. *Int J Pediatr.* 2012;2012:9. doi:10.1155/2012/463850
- 46 Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet.* 2003;33:245-54.
- 47 Murphy SK, Huang Z, Hoyo C. Differentially methylated regions of imprinted genes in prenatal, perinatal and postnatal human tissues. *PLoS ONE.* 2012;7(7):e40924. doi: 10.1371/journal.pone.0040924
- 48 Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(44):17046-49.

- 49 Christensen BC, Marsit CJ. Epigenomics in Environmental Health. *Front Genet.* 2011;2:84. doi: 10.3389/fgene.2011.00084.
- 50 Daxinger L, Whitelaw E. Transgenerational epigenetic inheritance: more questions than answers. *Genome Res.* 2010;20(12):1623-8.
- 51 Remely M, de la Garza Ana L, Magnet U, Aumueller E, Haslberger Alexander G. Obesity: epigenetic regulation – recent observations. *Biomol Concepts.* 2015;6(3):163-75.
- 52 Ruchat S-M, Hivert M-F, Bouchard L. Epigenetic programming of obesity and diabetes by in utero exposure to gestational diabetes mellitus. *Nutr Rev.* 2013;71:S88-S94.
- 53 Drummond EM, Gibney ER. Epigenetic regulation in obesity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2013;16(4):392-97.
- 54 van Dijk S, Tellam R, Morrison J, Muhlhausler B, Molloy P. Recent developments on the role of epigenetics in obesity and metabolic disease. *Clin Epigenet.* 2015;7(1):1-13.
- 55 Lavebratt C, Almgren M, Ekstrom TJ. Epigenetic regulation in obesity. *Int J Obes.* 2012;36(6):757-65.