

# **AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO FETAL DE RATAS DIABÉTICAS E NÃO-DIABÉTICAS EXPOSTAS À FUMAÇA DE CIGARRO DE TABACO NO PÉRIODO PRÉ-PRENHEZ.**

Mariana Furugen C. Andrade, Yuri Karen Sinzato, Paula Helena Ortiz Lima, Maricelma da Silva Soares de Souza, Débora Cristina Damasceno, Marilza Vieira Cunha Rudge – Inter-áreas – Medicina – Departamento de Ginecologia e Obstetrícia - Faculdade de Medicina de Botucatu – Campus de Botucatu.

*Diabetes mellitus* é uma desordem crônica causada pela falta ou diminuição acentuada na produção de insulina pelas células beta ( $\beta$ ) das ilhotas pancreáticas ou pelo defeito nos receptores para insulina nas células-alvo, resultando em doença metabólica hiperglicêmica.<sup>1</sup> É progressiva, silenciosa e atinge vários órgãos. A hiperglicemia crônica no meio intra-uterino leva a esgotamento das células  $\beta$ , à menor produção de insulina e à restrição do desenvolvimento do conceito<sup>2,3</sup>, além de alterações no fluxo uterino-placentário<sup>4</sup> e nas trocas materno-fetais.<sup>4,5,6,7,8,9</sup> O diabetes grave em ratas é modelo de restrição do crescimento intra-uterino enquanto o diabetes moderado causa macrosomia fetal.<sup>7</sup>

Muitos métodos são utilizados para indução do diabetes experimental, dentre eles pode-se destacar a pancreatectomia, uso de agentes químicos como aloxana e *streptozotocin* (Dunn *et al.*, 1943; Rakieten *et al.*, 1963). Atualmente, a mais utilizada é a *streptozotocin* (STZ), antibiótico eficiente para a indução de um estado diabetogênico crônico. É droga citotóxica para células  $\beta$  pancreáticas em diversos animais experimentais, mimetizando o quadro clínico do *Diabetes mellitus* tipo 1 do indivíduo (Pitkin & Van Orden, 1974; Bólzán & Bianchi, 2002).

Diversos estudos relatam que o consumo de cigarros, durante a gestação, causa retardo de crescimento intra-uterino e parto prematuro. Além disso, o baixo peso ao nascimento (abaixo de 2000 g) é o principal prognóstico de morte infantil.

A linha de investigação do Grupo Diabetes e Gravidez: Clínico e Experimental, da Disciplina de Obstetrícia do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, está direcionada para o estudo dos desvios do desenvolvimento fetal, da função placentária no diabetes,<sup>1,7,16-18</sup> e para tratamento do diabetes materno com o objetivo de prevenir o desenvolvimento fetal anormal e garantir o funcionamento adequado da placenta. Alguns trabalhos experimentais com fins terapêuticos já foram desenvolvidos<sup>19-21</sup>, visando mudanças do protocolo binômio diabetes e gestação na prática clínica.<sup>16-22</sup> Além da associação diabetes e gestação, o grupo de Pesquisa Experimental de Ginecologia e Obstetrícia pretende investigar as repercussões da fumaça de cigarro na gestação diabética e na incidência de anomalias fetais nos animais de experimentação.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da exposição materno à fumaça de cigarro no período que antecede a prenhez de ratas diabéticas e não-diabéticas quanto ao desenvolvimento fetal.

Ratas Wistar foram distribuídas aleatoriamente em quatro grupos experimentais de acordo com a presença ou não do diabetes expostas ou não à fumaça de cigarro. As ratas foram expostas à fumaça de 10 cigarros por 30 minutos (2x/dia) do 47º dia de vida até a fase adulta com a confirmação da prenhez (pré-prenhez). O diabetes foi induzido por *streptozotocin* (40 mg/kg). No 21º dia de prenhez, as ratas foram anestesiadas e mortas para obtenção dos fetos. Os dados foram analisados de acordo com o Teste de Student e foi considerado  $p < 0,05$  como limite de significância.

Os resultados deste estudo mostraram que, nas ratas não-diabéticas, confirmou-se a normoglicemia durante a prenhez, com valores médios de 90,0 mg/dL. Ratas não-diabéticas expostas à fumaça de cigarro de tabaco não apresentaram diferenças glicêmicas significativas em relação às não-expostas. A comparação dos níveis glicêmicos entre grupos de ratas diabéticas não-expostas à fumaça com ratas diabéticas expostas à fumaça de cigarro antes da prenhez também não mostrou alteração significativa ( $p > 0,05$ ). As ratas não-diabéticas expostas à fumaça de cigarro apresentaram redução de peso, embora não estatisticamente significativa, comparada às ratas não-diabéticas não-expostas. No entanto, a exposição à fumaça de cigarro causou queda significativa de peso nas ratas diabéticas quando comparadas às diabéticas não-expostas.

As médias de pesos dos recém-nascidos e das placentas e índices placentários de ratas não-diabéticas expostas à fumaça de cigarro de tabaco antes da prenhez não apresentaram diferenças significativas em relação às ratas não-diabéticas não-expostas à fumaça (TABELA 1).

**TABELA 1.** Médias e desvios-padrão do peso fetal e da placenta e do índice placentário obtidos de ratas não-diabéticas expostas ou não à fumaça de cigarro de tabaco antes da prenhez.

Variáveis	Grupos	
	NDNF	NDFPP
Peso Fetal (g)	5,31 ± 0,31	5,45 ± 0,47
Peso Placenta (g)	0,49 ± 0,03	0,50 ± 0,08
Índice Placentário	0,09 ± 0,00	0,09 ± 0,01

*Legenda:* **NDNF:** Não-diabético não-exposto à fumaça de cigarro de tabaco; **NDFPP:** Não-Diabético exposto à fumaça de cigarro de tabaco somente antes da prenhez (período pré-prenhez).

p> 0,05 – n.s.

Os recém-nascidos de ratas diabéticas expostas à fumaça de cigarro antes da prenhez apresentaram médias dos pesos corporais e placentários sem diferença estatisticamente significativa comparadas às ratas do grupo diabético não-exposto à fumaça. Os índices placentários também não diferiram entre os grupos experimentais (TABELA 2).

**TABELA 2.** Médias e desvios-padrão do peso fetal e da placenta e do índice placentário obtidos de ratas diabéticas expostas ou não à fumaça de cigarro de tabaco antes da prenhez.

Variáveis	Grupos	
	DNF	DFPP
Peso Fetal (g)	4,42 ± 0,60	4,23 ± 0,47
Peso Placenta (g)	0,62 ± 0,08	0,66 ± 0,10
Índice Placentário	0,15 ± 0,05	0,16 ± 0,04

*Legenda:* **DNF:** Diabético não-exposto à fumaça de cigarro de tabaco; **DFPP:**Diabético exposto à fumaça de cigarro de tabaco somente antes da prenhez (período pré-prenhez).

p> 0,05 – n.s.

A comparação estatística entre os grupos de ratas não-diabéticas e diabéticas mostrou diferença significativa quanto aos pesos médios fetais e placentários. Os pesos dos recém-nascidos nos grupos de ratas diabéticas foram menores e os pesos e índices placentários foram maiores quando comparados ao grupo de ratas não-diabéticas (TABELA 3).

**TABELA 3.** Médias e desvios-padrão do peso fetal e da placenta e do índice placentário obtidos de ratas não-diabéticas e diabéticas não-expostas à fumaça de cigarro de tabaco.

Variáveis	Grupos	
	NDNF	DNF
Peso Fetal (g)	5,31 ± 0,31	4,42 ± 0,60*
Peso Placenta (g)	0,49 ± 0,03	0,62 ± 0,08*
Índice Placentário	0,09 ± 0,00	0,15 ± 0,05*

*Legenda:* **NDNF:** Não-diabético não-exposto à fumaça de cigarro de tabaco; **DNF:** Diabético não-exposto à fumaça de cigarro de tabaco.

\* p<0,05 diferença significativa em relação ao grupo de ratas NDNF (ANOVA seguida do Teste de Student Newman Keuls)

Grande porcentagem das ratas do grupo NDNF (47,1%) apresentou fetos com peso adequado para idade de prenhez (AIP). Os fetos restantes distribuíram-se, de modo equivalente, entre as classes de peso pequeno (PIP – 23,2%) e grande (GIP – 29,7%). As ratas NDFPP apresentaram proporção similar de fetos GIP e PIP em relação às ratas NDNF (TABELA 4).

**TABELA 4.** Porcentagens (%) de fetos classificados de acordo com o peso corporal em: pequenos (PIP), adequados (AIP) e grandes (GIP) para idade de prenhez, distribuídos nos grupos de ratas não-diabéticas e diabéticas expostas ou não à fumaça de cigarro de tabaco antes da prenhez.

Variáveis	Grupos	
	NDNF	NDFPP
PIP (%)	23,2	15,3
AIP (%)	47,1	59,8
GIP (%)	29,7	24,9

*Legenda:* NDNF: não-diabético não-exposto à fumaça; NDFPP: não-diabético exposto à fumaça no período pré-prenhez.

p>0,05 – n.s.

Houve aumento significativo na proporção de fetos PIP e redução de AIP nas ratas DFPP em relação às ratas DNF (p<0,05) (TABELA 5).

**TABELA 5.** Porcentagens (%) de fetos classificados de acordo com o peso corporal em: pequenos (PIP), adequados (AIP) e grandes (GIP) para idade de prenhez, distribuídos nos grupos de ratas diabéticas e diabéticas expostas ou não à fumaça de cigarro de tabaco antes da prenhez.

Variáveis	Grupos	
	DNF	DFPP
PIP (%)	76,7	94,4*
AIP (%)	22,5	5,6*
GIP (%)	0,8	0

*Legenda:* DNF: diabético não-exposto à fumaça; DFPP: diabético exposto à fumaça no período pré-prenhez.

\* p<0,05 – diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo DNF (Teste de Exato de Fisher)

As porcentagens de fetos AIP e GIP foram reduzidas nas ratas NDNF em relação às ratas DNF. A porcentagem de fetos PIP aumentou significativamente nas ratas DNF comparadas àquelas encontradas nos fetos do grupo NDNF (p<0,05).

De acordo com os resultados apresentados, o presente estudo permite concluir que a associação do diabetes grave e da exposição à fumaça de cigarro exacerbou a restrição de crescimento intra-uterino em relação ao diabetes e à exposição à fumaça de cigarro quando analisados de maneira isolada.

## Referências Bibliográficas

BOLZÁN, A.D.; BIANCHI, M.S. Genotoxicity of streptozotocin. **Mutat. Res.**, v.512, p.121-134, 2002.

DUNN, J.S.; SHEENHAN, H.L.; MCLEITCHIE, N.G.B. Necrosis of islets of Langerhans produced experimentally. **Lancet**, v.1, p. 484-487, 1943.

PITKIN, R.M.; VAN ORDEN, D.E. Fetal effects of maternal streptozotocin-diabete. **Endocrinology**, v.94, p.1247-1253, 1974.

RAKIETEN, N.; RAKIETEN, M.L.; NADKARNI, M.V. Studies in the diabetogenic action of streptozotocin. **Cancer Chemother. Rep.** , v.29, p.91-94, 1963.