

ESTUDO EXPERIMENTAL DOS EFEITOS DA ASSOCIAÇÃO HIPERTENSÃO ARTERIAL E DIABETE SOBRE A PREENHEZ EM RATAS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSAS (SHR).

Deborah Soma, Gustavo Tadeu Volpato, Isabela Iessi, Yuri Karen Sinzato, Débora Cristina Damasceno, José Carlos Peraçoli. - Interáreas – Medicina – Departamento de Ginecologia e Obstetrícia - Faculdade de Medicina de Botucatu – Campus de Botucatu.

A associação hipertensão arterial sistêmica (HAS) e *Diabetes mellitus* (DM) é amplamente conhecida e freqüente. A HAS é duas vezes mais prevalente em indivíduos com diabetes mellitus, ocorrendo em 60 a 70% dos casos (Ferdinand, 2001). Por outro lado, o diabetes mellitus é 2,5 vezes mais freqüente em indivíduos hipertensos (Gress et al, 2000).

A gestação é reconhecida como um estado de alta resistência periférica à insulina, observando-se maior sensibilidade das células beta-pancreáticas a produzir insulina por ação estrogênica. Esse estado é fisiológico e necessário para o adequado desenvolvimento e crescimento do feto, sem prejuízo para o organismo materno. A resistência insulínica na gestação é caracterizada por tendência a hipoglicemia de jejum e hiperglicemias pós-prandiais. Essa resistência insulínica é atribuída ao “pool” de hormônios e peptídeos placentários, cuja produção máxima é observada na segunda metade da gravidez, induzindo mudança no padrão metabólico materno, que passa de predominantemente anabólico para catabólico, o que favorece o crescimento fetal (fase de hiperplasia celular). Entre essas substâncias placentárias, destaca-se o hormônio lactogênio placentário (hPL), o cortisol, a leptina e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Embora haja ação conjunta e sinérgica de todas essas substâncias na gênese da resistência insulínica, o lactogênio placentário é considerado o mais importante agente promotor dessa ação.

A hipertensão arterial está presente sob algumas de suas formas em 10% das gestações, sendo a principal causa de mortalidade materna em países desenvolvidos (Furuhashi et al, 1982; Willis, 1982) e ocupando segunda ou terceira posição em países em desenvolvimento (Belfort et al, 1995). É fator primordial na morbimortalidade perinatal (Davies, 1979; Beaufilet et al, 1984; Kaunitz et al, 1985; Cunha et al, 1986).

A associação diabete e gravidez cursa com uma maior incidência de complicações maternas e fetais. A gestante apresenta incidência elevada de hipertensão gestacional/pré-eclâmpsia, bacteriúria assintomática, infecção urinária (Persson et al, 1978; Valenzuela et al, 1992). O feto tem maior risco de morte súbita intra-útero no final da gestação, assim como maior possibilidade de parto prematuro terapêutico com neonatos de baixo peso (Naeyer, 1965). A macrosomia apresenta-se numa proporção de 15% a 25% nos recém-nascidos de mães diabéticas, enquanto que nas gestações normais apenas 3% dos fetos são grandes para a idade gestacional (Baird, 1969). As complicações neonatais, decorrentes da hiperglicemia materna, estão representadas pela maior incidência de malformações congênitas, distocias no parto, prematuridade, hipocalcemia e hiperbilirrubinemia (Persson et al, 1978; Oh, 1979).

O uso experimental de ratos de linhagem espontaneamente hipertensa (SHR) se justifica pelas semelhanças desse modelo com a hipertensão essencial humana. Para ampliar o entendimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na síndrome diabética, destaca-se o uso de agentes químicos β -citotóxicos (*streptozotocin* e aloxana). A hiperglicemia induzida por *streptozotocin* (STZ) é dose-dependente.

Considerando que a hipertensão arterial e o *Diabetes mellitus* são patologias que ocorrem com maior freqüência nas gestantes atendidas no serviço de Obstetrícia do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp; que a associação dessas duas patologias é fator potencial de agravamento das repercussões maternas e fetais e que a hipertensão arterial e a diabete são linhas de pesquisas clínica e experimental do referido serviço, delineou-se o presente trabalho em ratas espontaneamente hipertensas (SHR), com o objetivo de desenvolver modelo experimental da associação diabete/hipertensão arterial em ratas prenhes para avaliar a evolução e as repercussões maternas e perinatais.

Ratas Wistar Kyoto (WK) e SHR constituíram 4 grupos experimentais de acordo com a presença ou não do diabete (n= 12 animais/grupo). O diabete foi induzido por *streptozotocin* (40 mg/kg). Nos dias 0, 7, 14 e 21 de prenhez foram realizadas determinações da glicemia e da pressão

arterial (PA). No 21º dia de prenhez, as ratas foram anestesiadas e mortas para exposição dos cornos uterinos com contagem do número de corpos lúteos, implantações, reabsorções (mortes embrionárias), fetos vivos e mortos, pesagem dos fetos e das placentas. Os dados foram analisados pelo Teste *t* de Student, considerando-se $p < 0,05$ como limite de significância.

No presente estudo, os valores de glicemia das ratas Wistar Kyoto diabéticas e SHR diabéticas foram superiores a 300 mg/dL nas quatro determinações realizadas (dias zero, 7º, 14º e 21º de prenhez), confirmando o estado hiperglicêmico induzido experimentalmente através do *streptozotocin*. Comparativamente, as ratas Wistar Kyoto e SHR não diabéticas apresentaram taxas normais de glicemia e significativamente inferiores às das ratas Wistar Kyoto e SHR diabéticas (TABELA 1).

Quanto aos valores de pressão arterial, verificou-se aumento significativo apenas nas aferições do 7º e 14º dias de prenhez das ratas Wistar Kyoto diabéticas em comparação com os valores obtidos na linhagem Wistar Kyoto. Entretanto, esses valores não atingiram nível para caracterizar hipertensão arterial ($>150\text{mmHg}$). Não foi observada alteração estatisticamente significativa nas ratas SHR diabéticas em relação às ratas da linhagem SHR. Os grupos prenhes apresentam tendência em queda do valor da pressão arterial no final da prenhez (21º. dia), quando este valor é comparado com os valores dos demais momentos avaliados (TABELA 1).

TABELA 1. Média e desvio padrão dos valores de glicemia e da pressão arterial de ratas das linhagens Wistar Kyoto e SHR induzidas ou não, experimentalmente, ao diabetes.

Variáveis	Grupos			
	Wistar Kyoto	Wistar Kyoto diabético	SHR	SHR diabético
Glicemia(mg/dl)				
Dia zero	117,11 ± 16,18	423,00 ± 126,67*	102,30 ± 7,12	476,50 ± 118,56 [#]
Dia 7	103,00 ± 3,67	438,67 ± 185,11*	128,20 ± 60,57	476,00 ± 106,95 [#]
Dia 14	81,10 ± 8,48	440,25 ± 228,70*	94,00 ± 13,58	466,21 ± 155,12 [#]
Dia 21	123,33 ± 40,92	527,70 ± 37,60*	92,00 ± 26,20	474,84 ± 157,55 [#]
Pressão Arterial (mmHg)				
Dia zero	125,55 ± 22,14	122,50 ± 8,25	161,00 ± 9,37	157,44 ± 16,90
Dia 7	122,78 ± 12,02	135,70 ± 13,14*	161,50 ± 12,00	166,22 ± 22,40
Dia 14	122,78 ± 12,53	135,00 ± 10,80*	153,89 ± 13,20	162,40 ± 13,72
Dia 21	120,55 ± 23,38	133,43 ± 17,99	148,34 ± 27,61	149,21 ± 19,80

Valores expressos como média ± desvio-padrão

* $p < 0,05$ – diferença estatisticamente significante em relação ao grupo Wistar Kyoto

[#] $p < 0,05$ – diferença estatisticamente significante em relação ao grupo SHR

Os números de corpos lúteos e de fetos vivos mostraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos de ratas diabéticas e não-diabéticas, tanto da linhagem Wistar Kyoto como da linhagem SHR. As ratas Wistar Kyoto diabéticas apresentaram diminuição no número de implantações em relação às ratas Wistar Kyoto ($p < 0,05$). Houve aumento significativo de mortes embrionárias (reabsorções) nas ratas SHR diabéticas, quando comparadas às ratas SHR (TABELA 2).

TABELA 2. Média e desvio padrão da performance reprodutiva de ratas das linhagens Wistar Kyoto e SHR induzidas ou não, experimentalmente, ao diabetes.

Variáveis	Grupos			
	Wistar Kyoto	Wistar Kyoto diabético	SHR	SHR diabético
No. Corpos Lúteos	14,22 ± 1,39	11,14 ± 2,27*	12,75 ± 2,60	10,07 ± 1,32 [#]
No. Implantações	12,55 ± 1,67	7,10 ± 5,08*	8,50 ± 3,34	6,69 ± 2,78
No. Fetos Vivos	12,22 ± 1,85	5,71 ± 5,38*	7,12 ± 1,77	4,58 ± 2,62 [#]
No. Reabsorções	0,22 ± 0,44	1,20 ± 2,15	1,37 ± 1,77	4,23 ± 3,47 [#]

Valores expressos como média ± desvio-padrão

* p<0,05 – diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo Wistar Kyoto

[#] p<0,05 – diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo SHR

As médias dos pesos dos fetos de ratas Wistar Kyoto e SHR diabéticas foram reduzidas em relação às ratas Wistar Kyoto e SHR, respectivamente. Em relação às médias dos pesos das placentas, houve aumento do peso nas ratas SHR diabéticas em comparação às ratas SHR (TABELA 3).

TABELA 3. Média e desvio padrão dos pesos fetal e placentário de ratas das linhagens Wistar Kyoto e SHR induzidas ou não, experimentalmente, ao diabetes.

Variáveis	Grupos			
	Wistar Kyoto	Wistar Kyoto diabético	SHR	SHR diabético
Peso Fetal	5,40 ± 0,21	4,94 ± 0,39*	3,84 ± 0,50	2,94 ± 0,55 [#]
Peso placenta	0,50 ± 0,07	0,54 ± 0,06	0,50 ± 0,05	0,65 ± 0,13 [#]

Valores expressos como média ± desvio-padrão

* p<0,05 – diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo Wistar Kyoto

[#] p<0,05 – diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo SHR

O presente estudo permitiu concluir que o diabetes grave e a hipertensão arterial, analisados isoladamente, prejudicaram a performance reprodutiva das ratas e a associação da hipertensão arterial e diabetes grave causou principalmente restrição de crescimento intra-uterino.

Referências Bibliográficas

- BAIRD, J.D. Some aspects of carbohydrate metabolism in pregnancy with special reference to the energy metabolism and hormonal status of the infant of diabetic woman and diabetogenic effect of pregnancy. **J. Endocrinol.**, v.44, p.139-143, 1969.
- BEAUFILS, M.; LARGET, D.; CHRÉTIEN, J.M.; UZAN, S.; RICHET, G. Aspects épidémiologiques de hypertension gravidique: étude sur 442 cases. **Arch. Mal. Coeur.**, v. 77, p.1200-1203, 1984.
- BELFORT, P.; CASTRO, P.A.; SACCHETTI, S.A.; RESENDE, J. Mortalidade maternal. Causas e responsabilidades. **Femina**, v.13, p.559-579, 1985.

CUNHA, S.P.; PERAÇOLI, J.C.; MATHEUS, M.; DUARTE, G.; YANO, R.K.; MAUAD, F.; CHÚFALO, J.E. Hipertensão arterial e gravidez. Complicações maternas e fetais. **J. Bras. Ginecol.**, v.96, p.353-357, 1986.

DAVIES, A.M. Epidemiology of the hypertensive disorders of pregnancy. **Bull. WHO**, v.57, p.373-386, 1979.

FERDINAND, K.C. Update in pharmacologic treatment of hypertension. **Cardiol. Clin.**, v.19, p.279-294, 2001.

FRIEDMAN, M.; FREED, S.C. Microphonic manometer for indirect determination of systolic blood pressure in the rat. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.70, p.670-672, 1949.

FURUHASHI, N.; SUZUKI, M.; KONO, H.; TANAKA, M.; TAKAHASHI, T.; HIRUTA, M. Clinical background of preeclampsia in Japanese women. **Clin. Exp. Hypertens. (B)**, v.1, p.505-510, 1982.

GRESS, T.W.; NIETO, F.J.; SHAHAR, E. Hypertension and antihypertensive therapy as the risk factor for type 2 diabetes: atherosclerosis risk in communities study. **N. Engl. J. Med.**, v.342, p. 905-912, 2000.

KAUNITZ, A.M.; HUGHES, J.M.; GRIMES, D.A.; SMITH, J.C.; ROCHAT, R.W.; KAFRISSEN, M.E. Causes of maternal mortality in the United States. **Obstet. Gynecol.**, v.65, p.605-612, 1985.

NAEYE, R.L. Infants of diabetic mothers. A quantitative morphology study. **Pediatrics**, v.35, p.980-985, 1965.

OH, W. Neonatal care and long-term outcome on infants of diabetic mothers. In: MERKATZ, I.R.; ADAM, P.A.J. **The diabetic pregnancy: a perinatal perspective**. New York: Grune & Stratton, 1979. p.195-205.

PERSSON, B.; GENTZ, J.; LUNELL, N.O. Diabetes in pregnancy. In: SCARPELLI, E.M.; COSMI, E.V. **Reviews in perinatal medicine**. New York: Raven Press, 1978. p.1-55.

VALENZUELA, M.A.; ARGOMEDO, G.; GUAJARDO, H.; PENA, E.; CASTILHO, R. Clinical experience in diabetes and pregnancy. **Rev. Méd. Chil.**, v.117, p. 508-515, 1989.

WILLIS, S.E. Hypertension in pregnancy: pathophysiology. **Am. J. Nurs.**, v.82, p.792-797, 1982.