

Hipertensão Arterial Experimental e Prenhez em Ratas: Repercussões sobre o Peso, Comprimento e Órgãos dos Recém-nascidos

Experimental Arterial Hypertension and Pregnancy in Rats:
Repercussion Regarding Body Weight Gain, Body Length and Organs of Offspring

Rogério Dias¹, José Carlos Souza Trindade², Marilza Vieira Cunha Rudge¹

RESUMO

Objetivo: estudar as repercussões da hipertensão arterial sobre o peso e comprimento corpóreo e sobre o peso do fígado e do cérebro de recém-nascidos (RN).

Métodos: foram utilizadas 82 ratas virgens da raça Wistar em idade de reprodução. Após a indução da hipertensão arterial experimental (modelo Goldblatt I: 1 rim - 1 clipe) as ratas foram sorteadas para compor os quatro grandes grupos experimentais (controle (C), manipulação (M), nefrectomia (N) e hipertensão (H)). A seguir, as ratas foram distribuídas por sorteio em 8 subgrupos, sendo quatro grupos prenhes e quatro grupos não-prenhes. Após acasalamento dos quatro grupos prenhes, obtivemos com o nascimento dos recém-nascidos os seguintes grupos: RN-C, RN-M, RN-N e RN-H, respectivamente controle, manipulação, nefrectomia e hipertensão.

Resultados: quanto ao peso e comprimento corpóreo dos recém-nascidos observamos que os grupos RN-N e RN-H apresentaram os menores pesos ($\bar{x} = 3,64 \pm 0,50$ e $\bar{x} = 3,37 \pm 0,44$, respectivamente) e comprimentos ($\bar{x} = 3,89 \pm 0,36$ e $\bar{x} = 3,68 \pm 0,32$, respectivamente) em relação aos seus controles ($\bar{x} = 5,40 \pm 0,51$ e $\bar{x} = 4,95 \pm 0,23$, respectivamente). Quanto ao peso do fígado os RN-H apresentaram os menores pesos ($\bar{x} = 0,22 \pm 0,03$) em relação a todos os demais grupos em estudo, e quanto ao peso do encéfalo os RN-N e RN-H apresentaram os menores pesos ($\bar{x} = 0,16 \pm 0,01$ e $\bar{x} = 0,16 \pm 0,05$, respectivamente) em relação aos seus controles ($\bar{x} = 0,22 \pm 0,04$).

Conclusão: a hipertensão arterial determinou redução no peso corpóreo, no comprimento, no peso do fígado e no peso do encéfalo dos recém-nascidos.

PALAVRAS-CHAVE: Hipertensão e gravidez. Crescimento intra-uterino retardado. Hipertensão experimental em ratas.

Introdução

São vários os fatores que podem ser indicados como responsáveis pelo retardamento do

¹ Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

² Departamento de Urologia, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

Laboratório de Investigação Experimental do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

Correspondência:

Rogério Dias

Departamento de Ginecologia e Obstetrícia

Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP

Caixa Postal 530

18618-970 - Botucatu - SP

Este trabalho foi parcialmente financiado pelo CNPq - Processo nº 300388/98-9

crescimento fetal. Sabe-se que o crescimento e a diferenciação do feto são determinados basicamente por informações genéticas contidas no interior das células em fase de divisão e multiplicação. Superpondo-se ao controle genético, atuam fatores restritivos do crescimento, que limitam a utilização de nutrientes pelas células, e fatores estimulantes, tais como hormônios. Do equilíbrio entre esses fatores resultará a curva de crescimento fetal, bem como o peso do feto ao nascimento^{1,2}.

É provável que o feto raramente atinja seu potencial de crescimento geneticamente determinado. Em condições normais, o crescimento é restringido, em maior ou menor grau, pela ação de fatores desconhecidos sobre o ambiente fetal. Entretanto, há alguns fatores perfeitamente de-

finidos que podem restringir o crescimento e desviar o feto de sua curva geneticamente determinada, produzindo o retardo do crescimento fetal como um todo³.

Os fatores restritivos dividem-se, de modo geral, em maternos, placentários, fetais e ambientais. Estes fatores não atuam isoladamente, porém, associados; desta forma, um fator predominantemente de origem materna pode atuar concomitantemente sobre a estrutura placentária ou celular fetal. Winick⁴ considera que esses fatores podem ser classificados em intrínsecos e extrínsecos. Os primeiros são decorrentes de malformações congênitas, de erros inatos do metabolismo ou de outros problemas genéticos. Os extrínsecos podem ser subdivididos em dois tipos: tipo I, devido à insuficiência vascular uterino-placentária, que causa déficit assimétrico no crescimento fetal; tipo II, conseqüente, especificamente, à desnutrição crônica materna, que determina prejuízos de maneira simétrica em todos os órgãos. Evidentemente o tipo I ocorre com mais freqüência em países desenvolvidos e o tipo II em locais subdesenvolvidos ou em desenvolvimento^{3,5,6}.

Os efeitos da isquemia uterino-placentária sobre o crescimento fetal receberam pouca atenção por longo período e diferentes opiniões foram manifestadas quanto às conseqüências da hipertensão sobre o fluxo sanguíneo uterino-placentário. Segundo alguns autores, nos casos de hipertensão há diminuição da perfusão placentária⁷⁻⁹. Na opinião de outros, essa diminuição é decorrência de alterações em arteríolas espiraladas da placenta, levando à insuficiência de fluxo placentário e, conseqüentemente, ao retardo de crescimento intra-uterino^{3,10,11}.

Rosso e Streeter¹² verificaram em ratas desnutridas, diminuição na perfusão sanguínea materno-placentária, com prejuízo de transferência de nutrientes ao feto. Tonete et al.⁵ relatam a influência da desnutrição protéico-calórica, em ratas, durante determinados períodos da gestação, no que se refere a ganho de peso na gravidez, tempo de gestação e número de recém-nascidos.

Naeye et al.¹³, analisando necrópsias de recém-nascidos, consideraram que o estado nutricional materno antes da gestação interferia pouco no desenvolvimento fetal, desde que o ganho de peso materno durante o período gestacional fosse adequado. No entanto, quando este era inadequado, os fetos apresentavam-se com alterações importantes, como: déficit do peso corporal, de estatura e do peso dos órgãos.

A partir destas considerações objetivamos, no presente trabalho, verificar a influência da

hipertensão arterial sobre a prenhez em relação às seguintes variáveis: peso e comprimento corporal, peso do fígado e peso do encéfalo dos recém-nascidos.

Material e Métodos

Utilizamos 82 ratas virgens, Wistar, em idade de reprodução, que foram colocadas em gaiolas individuais, com temperatura ambiente entre 22 e 25°C, recebendo água e ração normal para animais de laboratório (Batavo[®]) *ad libitum*.

Após a indução da hipertensão arterial experimental as ratas foram distribuídas, por sorteio, em quatro grandes grupos experimentais: controle (C), manipulação (M), nefrectomia (N) e hipertensão (H).

A seguir, as ratas foram novamente sorteadas para compor os subgrupos prenhe (P) e não-prenhe (NP), constituindo desta forma 8 grupos experimentais: quatro prenhes e quatro não prenhes (Tabela 1).

Tabela 1 - Grupos experimentais e respectivas denominações.

Grupos	Prenhe	Não-Prenhe
Controle (C)	P-C	NP-C
Manipulação (M)	P-M	NP-M
Nefrectomia (N)	P-N	NP-N
Hipertensão (H)	P-H	NP-H

As ratas dos grupos prenhes foram acasaladas e a prenhez diagnosticada pela análise microscópica do esfregaço vaginal. A presença de espermatozóide caracterizou o "dia zero" da prenhez¹⁴. No período de prenhez, os animais permaneceram em gaiolas individuais.

Com o nascimento dos recém-nascidos provenientes dos respectivos grupos prenhes, obtivemos os seguintes grupos: RN-C, RN-M, RN-N e RN-H, respectivamente, controle, manipulação, nefrectomizado e hipertenso.

Utilizamos, para o referido estudo, os seguintes métodos estatísticos: análise de variância paramétrica¹⁵, análise de variância não-paramétrica e prova de Kruskal-Wallis¹⁶.

Resultados

A Figura 1 mostra as médias (\bar{x}), desvios-padrão (s), coeficientes de variação (CV) e tama-

nho amostral do peso corpóreo dos recém-nascidos provindos de ratas sem tratamento (grupo controle (RN-C)), com manipulação cirúrgica (RN-M), com nefrectomia (RN-N) e com hipertensão (RN-H). Pela análise estatística $F_{calc} = 37,81$ (significante), $F_{crit} = 2,86$ e $\alpha = 0,05$ observamos que $(\bar{x}_{RNC} = \bar{x}_{RNM}) > \bar{x}_{RNN} > \bar{x}_{RNH}$, ou seja, os grupos RN-N e RN-H apresentaram os menores pesos corpóreos em relação ao grupo controle (RN-C).

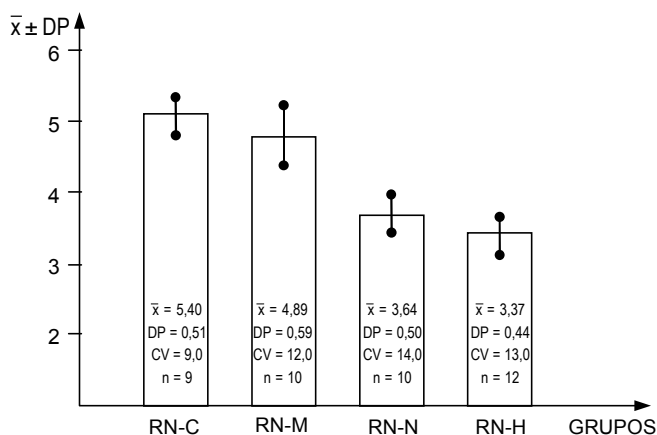


Figura 1 - Peso corpóreo (em grama) dos recém-nascidos dos 4 grupos experimentais: (RN-C), (RN-M), (RN-N) e (RN-H): Médias (x̄), desvios-padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e tamanhos amostrais (n).

A Figura 2 mostra as médias de comprimento corpóreo dos 4 grupos de recém-nascidos em estudo. Observa-se que os recém-nascidos dos grupos RN-N e RN-H apresentaram os menores comprimentos corporais quando comparados aos grupos RN-C e RN-M conforme os dados estatísticos: $F_{calc} = 37,37$ (significante), $F_{crit} = 2,86$ e $\alpha = 0,05$, em que $(\bar{x}_{RNC} = \bar{x}_{RNM}) > (\bar{x}_{RNN} = \bar{x}_{RNH})$.

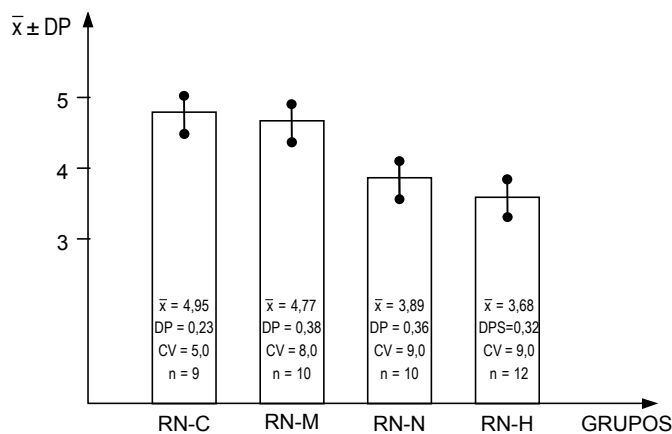


Figura 2 - Comprimento corpóreo (em cm) dos recém-nascidos dos 4 grupos experimentais: (RN-C), (RN-M), (RN-N) e (RN-H): Médias (x̄), desvios-padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e tamanhos amostrais (n).

A Figura 3 evidencia as médias, os desvios-padrão, coeficiente de variação e tamanho amostral dos pesos dos fígados dos recém-nascidos dos 4 grupos experimentais em estudo. Observa-se que as médias dos grupos RN-C, RN-M e RN-N não diferem estatisticamente. Pela análise estatística temos $F_{calc} = 3,76$ (significante), $F_{crit} = 2,86$ e $\alpha = 0,05$, sendo, portanto: $(\bar{x}_{RNC} = \bar{x}_{RNM} = \bar{x}_{RNN}) > \bar{x}_{RNH}$.

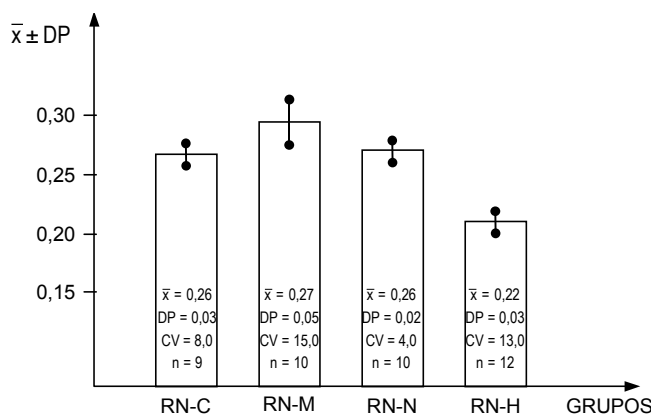


Figura 3 - Peso do fígado (em gramas) dos recém-nascidos dos 4 grupos experimentais: (RN-C), (RN-M), (RN-N) e (RN-H): Médias (x̄), desvios-padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e tamanhos amostrais (n).

Da mesma forma, as médias, desvios-padrão, coeficiente de variação e tamanho amostral dos pesos dos encéfalos dos recém-nascidos dos 4 grupos experimentais em estudo são mostrados na Figura 4. As maiores médias são dos grupos RN-C e RN-M, estatisticamente diferentes das dos grupos RN-N e RN-H. Pela análise estatística observa-se que $F_{calc} = 6,68$ (significante), $F_{crit} = 2,86$ e $\alpha = 0,05$, demonstrando que $(\bar{x}_{RNC} = \bar{x}_{RNM}) > (\bar{x}_{RNN} = \bar{x}_{RNH})$.

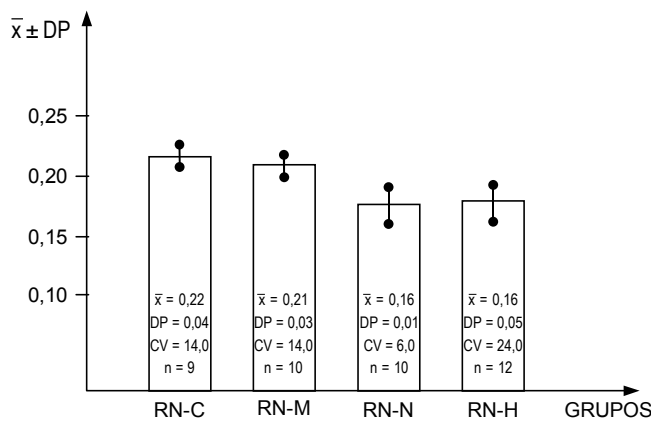


Figura 4 - Peso do encéfalo (em gramas) dos recém-nascidos dos 4 grupos experimentais: (RN-C), (RN-M), (RN-N) e (RN-H): Médias (x̄), desvios-padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e tamanhos amostrais (n).

Discussão

O crescimento intra-uterino retardado pode ser devido a uma privação crônica de nutrientes (glicose, aminoácidos, oxigênio, etc.) para o feto em desenvolvimento^{9,10,17}. A literatura nos mostra que o retardo de crescimento no modelo animal tem sido induzido por restrição alimentar^{2,9}, por redução de fluxo sanguíneo uterino-placentário¹⁸, pela indução de hipertensão renal materna¹⁹ e pela redução de oxigênio ofertado ao animal^{10,17}. Lieb et al.¹⁹ induziram hipertensão (tipo Goldblatt I) em ovelhas e verificaram que o fluxo sanguíneo uterino-placentário diminuiu. A hipertensão durante a gestação, em humanos, determina alterações em arteríolas espiraladas da placenta, levando a insuficiência de fluxo placentário e, conseqüentemente, ao retardo de crescimento intra-uterino^{3,11}.

Winer et al.²⁰ relatam que os recém-nascidos de mães hipertensas apresentam menores pesos corpóreos ao nascimento em relação àqueles provenientes de mães normais. No presente estudo, observamos que os recém-nascidos do grupo RN-N e os do RN-H apresentaram os menores pesos corpóreos em relação ao grupo controle, demonstrando a influência da nefrectomia unilateral e da hipertensão sobre esse parâmetro. Os RN-H apresentaram menor peso corpóreo em relação aos RN-N. A provável explicação para este fato é que há uma soma de efeitos da nefrectomia com a hipertensão.

Diante destes resultados experimentais, acreditamos que tanto a nefrectomia como a hipertensão arterial contribuem para o nascimento de fetos de menor peso corpóreo, como conseqüência de fator hormonal, de diminuição de fluxo sanguíneo uterino-placentário ou por alterações vasculares da placenta.

Observa-se também que os recém-nascidos de ratas com nefrectomia (RN-N) ou com hipertensão (RN-H) apresentam os menores comprimentos corporais quando comparados aos RN-C e RN-M.

Os dados por nós obtidos estão coerentes com os da literatura, ou seja, que tanto a nefrectomia unilateral como a hipertensão ocasionam alterações vasculares, determinando comprometimento placentário, e esse, por sua vez, causa déficit no crescimento fetal como um todo^{9,18,19}.

Observamos que as médias dos grupos controle, manipulação e nefrectomia não diferem estatisticamente. Entretanto, todas elas são estatisticamente maiores do que a média do grupo hipertenso. Isto significa que a hipertensão in-

fluuiu de tal forma na economia fetal, determinando nestes recém-nascidos (RN-H) fígados de menores pesos em relação aos demais grupos em estudo.

Wigglesworth¹⁸ observou, em seus estudos, que os fígados de fetos provenientes de ratas hipertensas eram menores quando comparados com controles normais. Nitzan et al.²¹, trabalhando também com ratas hipertensas, observaram resultados semelhantes aos nossos. Sartor²² observou que os recém-nascidos dos grupos de ratas com desnutrição protéico-calórica durante a gestação apresentavam menor peso de fígado do que os controles normais. Portanto, nossos dados são concordes com a literatura, pois sugerem que a hipertensão materna determina diminuição da massa hepática dos recém-nascidos.

Quanto à variável peso do encéfalo, quando comparamos 4 grupos investigados, verificamos que as maiores médias são dos grupos RN-C e RN-M, estatisticamente diferentes das dos grupos RN-N e RN-H. Isto significa que os tratamentos experimentais utilizados, ou seja, a nefrectomia e a hipertensão, influíram no peso do encéfalo dos recém-nascidos, diminuindo-o.

Outros autores, trabalhando com ratas hipertensas prenhes, também observaram menor peso encefálico nos recém-nascidos do grupo hipertenso em relação ao grupo controle normal^{9,18,19}. Tonete et al.^{5,6}, trabalhando com desnutrição protéico-calórica em ratas prenhes, observaram a existência de correlação entre peso corpóreo ao nascimento e peso cerebral, pois quando detectado déficit corporal, certamente o encéfalo também se encontrava comprometido, em algum grau. Alguns autores observaram, para o homem, o mesmo observado experimentalmente, isto é, crianças pequenas para a idade gestacional são as que se apresentam com as menores medidas de perímetro cefálico^{23,24}.

Lin et al.²⁵, em trabalhos clínicos com gestantes hipertensas, responsabilizaram a gravidade da insuficiência uterino-placentária como a principal causa de más condições fetais de nascimento. Encontraram maiores índices de problemas neurológicos em fetos de mães hipertensas do que de mães normais, o que sugere que estes fetos são mais suscetíveis aos efeitos da hipóxia durante o trabalho de parto.

Observa-se, em nossos resultados, forte correlação entre peso corpóreo ao nascimento e peso encefálico. Tais observações estão de acordo com outras referências da literatura, demonstrando que a nefrectomia e o estado hipertensivo determinam fetos com baixo peso encefálico, o que provavelmente trará repercussões no desen-

volvimento neurológico desses recém-nascidos, com graves conseqüências no decorrer de suas vidas.

Portanto, nas condições de nosso trabalho e com base nos resultados obtidos, podemos concluir que a hipertensão arterial determinou redução no peso corpóreo, no comprimento, no peso do fígado e no peso do encéfalo dos recém-nascidos.

SUMMARY

Purpose: to study the repercussion of arterial hypertension regarding body weight gain and body length, as well as liver and brain weight of offspring.

Methods: a total of 82 animals in reproductive age were used. They were randomly assigned to 4 different groups (control, handled, nephrectomized and hypertensive). Renal hypertension was produced by a controlled constriction of the main left renal artery and contralateral nephrectomy, according to the technique described by Goldblatt (Goldblatt I: one kidney - one clip hypertension). Afterwards, they were distributed among nonpregnant and pregnant groups. The following newborn groups resulted from the pregnant groups: RN-C (control-newborn group of pregnant rats without surgical treatment), RN-M (manipulation-newborn group of the pregnant rats with surgical manipulation), RN-N (nephrectomized-newborn group of pregnant rats with nephrectomy) and RN-H (hypertensive-newborn group of pregnant rats with hypertension).

Results: the RN-N and RN-H groups showed body weight gain ($\bar{x} = 3,64 \pm 0,50$; $\bar{x} = 3,37 \pm 0,44$), body length ($\bar{x} = 3,89 \pm 0,36$; $\bar{x} = 3,68 \pm 0,32$) and brain weight ($\bar{x} = 0,16 \pm 0,01$; $\bar{x} = 0,16 \pm 0,05$), respectively, smaller than the control group ($\bar{x} = 5,40 \pm 0,51$; $\bar{x} = 4,95 \pm 0,23$ and $\bar{x} = 0,22 \pm 0,04$, respectively). In addition, the RN-H group showed the lowest liver weight ($\bar{x} = 0,22 \pm 0,03$) compared with the other three groups.

Conclusion: after statistical analysis, the results obtained showed that the arterial hypertension determined a reduction in body weight, body length, and liver and brain weight of the offspring.

KEY WORDS: *Hypertension and pregnancy. Intrauterine growth retardation. Experimental hypertension in rats.*

Referências

1. Liggins GC. The drive to fetal growth. In: Beard RW, Nathanielsz PW, editors. Fetal physiology and medicine: the basis of perinatology. 3rd ed. London: W.B. Saunders; 1976. p.254-70.
2. Trindade CEP, Nóbrega FJ, Rudge MCV, Suguihara CY, Pinho SZ, Zuliani A. Estudo do peso e da idade gestacional de recém-nascidos e dos fatores que interferem no desenvolvimento fetal: nível sócio-econômico, fatores maternos, fetais e placentários. *J Pediatr* 1980; 48:83-99.
3. Low JA, Galbraith RS. Pregnancy characteristics of intrauterine growth retardation. *Obstet Gynecol* 1974; 44:122-6.
4. Winick M. Cellular changes during placental and fetal growth. *Am J Obstet Gynecol* 1971; 109:166-76.
5. Tonete SSQ, Nóbrega FJ, Curi PR, Trindade CEP, Sartor MEA, Moura ECV. Desnutrição intrauterina em ratos. I. Repercussões no ganho de peso, tempo de gestação e no número de recém-nascidos. *Arch Latinoam Nutr* 1983; 33:96-108.
6. Tonete SSQ, Nóbrega FJ, Sartor MEA, Trindade CEP, Ancona Lopez F, Curi PR. Desnutrição intrauterina em ratos. II. Estudo do peso e mortalidade do produto da concepção. *Arch Latinoam Nutr* 1983; 33:109-25.
7. Gant NF, Chand S, Worley RJ, Whalley PJ, Crosby VD, McDonald PC. A clinical test useful for predicting the development of acute hypertension in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1974; 120:1-7.
8. Karlsson K, Ljungblad U, Lundgren Y. Blood flow of the reproductive system in renal hypertensive rats during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 142:1039-44.
9. Wallace JM, Bourke DA, Aitken PP. Nutrition and fetal growth: paradoxical effects in the overnourished adolescent sheep. *J Reprod Fertil Suppl* 1999; 54:385-99.
10. Kingdom JC, Kaufmann P. Oxygen and placental vascular development. *Adv Exp Med Biol* 1999; 474:259-75.
11. Scott JM, Jordan JM. Placental insufficiency and small for dates baby. *Am J Obstet Gynecol* 1972; 113:823-32.
12. Rosso P, Streeter MR. Effects of food on protein restriction on plasma volume expansion in pregnant rats. *J Nutr* 1979; 109:1887-92.
13. Naeye RL, Blanc W, Paul C. Effects of maternal nutrition of the human fetus. *Pediatrics* 1973; 52:494-503.
14. Camano L. Contribuição para o estudo histoquímico do muco do epitélio vaginal da rata (*Rattus norvegicus* var. *albino*, Rodentia, Mammalia), no ciclo estral, na prenhez e na pós-parturição [tese]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina; 1968.
15. Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods. 7th ed. Ames: The Iowa State University Press; 1980. p.505.

16. Siegel S. Estatística não paramétrica. 2ª ed. São Paulo: McGraw Hill do Brasil; 1975. p.350.
17. Van Geijn HP, Kaylor WM Jr, Nicola KR, Zuspan FP. Induction of severe intrauterine growth retardation in the Sprague-Dawley rat. Am J Obstet Gynecol 1980; 137:43-7.
18. Wigglesworth JS. Experimental growth retardation in foetal rat. J Pathol Bacteriol 1964; 88:1-13.
19. Lieb SM, Zugaib M, Nuwayhid B, et al. Nitroprusside induced hemodynamic alterations in normotensive and hypertensive pregnant sheep. Am J Obstet Gynecol 1981; 139:925-31.
20. Winer EK, Tejani NA, Atluru VL, DiGiuseppe R, Borofsky LG. Four-to-seven-year evaluation in two groups of small-for gestational age infants. Am J Obstet Gynecol 1982; 143:425-9.
21. Nitzan M, Orloff S, Chrzanowska BL, Schulman JD. Intrauterine growth retardation in renal insufficiency: An experimental model in the rat. Am J Obstet Gynecol 1979; 133:40-3.
22. Sartor MEA. Cálcio, fósforo, magnésio, proteínas em ratas gestantes e seus produtos de concepção submetidos à desnutrição proteico-calórica. Estudo experimental em ratos [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1985.
23. Stein H. Maternal protein depletion and small for gestational age babies. Arch Dis Child 1975; 50:146-8.
24. Urrusti J, Yoshida P, Velesco L, et al. Human fetal growth retardation. I. Clinical features of sample with intrauterine growth retardation. Pediatrics 1972; 50:547-58.
25. Lin CC, Lindheimer MD, River P, Moawad AH. Fetal outcome in hypertensive disorders of pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1982; 142:255-60.

5º Congresso Mundial de Medicina Perinatal

Barcelona - Espanha

Datas: 23 a 27 de setembro de 2001

Secretaria técnica: E Granados, 44 08008
Barcelona - Spain

Tel: 34 93 454-5400 - Fax: 34 93 451-7438

e-mail: gp@pacifico-meetings.com