

**DESNUTRIÇÃO INTRAUTERINA EM RATOS.
I. REPERCUSSÕES NO GANHO DE PESO, TEMPO DE
GESTAÇÃO E NO NÚMERO DE RECEM-NASCIDOS**

*Suzana de Souza Queiroz Tonete,¹ Fernando José de Nóbrega,²
Paulo Roberto Curi,³ Cleide Enoir Petean Trindade⁴, Maria
Eneida Aiello Artor⁵ e Ely Carvalho Vasconcelos de Moura⁶*

**Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”
- UNESP - São Paulo, Brasil**

Manuscrito modificado recebido: 17-5-82.

- 1 Professor Assistente Doutor do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidad Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” - UNESP - CEP: 18600, Botucatu, São Paulo, Brasil.
- 2 Professor Titular do Departamento de Pediatria da Escola Paulista de Medicina, São Paulo, Brasil.
- 3 Professor Assistente Doutor do Departamento de Bioestatística do Instituto Básico de Biologia Médica e Agrícola de Botucatu - UNESP - Brasil.
- 4 Professor Adjunto do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP - Brasil.
- 5 Auxiliar de Ensino do Departamento de Pediatria da mesma Faculdade.
- 6 Professor Assistente Doutor do Departamento de Bioquímica do Instituto Básico de Biologia Médica e Agrícola de Botucatu - UNESP - Brasil.

RESUMO

Os autores verificaram 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. Para tanto, foram constituídos quatro grupos experimentais: controle (C), receberam, à vontade, ração com 21% de proteínas; desnutrido toda gestação (D), desnutrido na primeira metade da gestação (D1), desnutrido na segunda metade da gestação (D2). As ratas dos grupos desnutridos receberam ração com 10% de proteína e em quantidade igual à metade da oferecida ao grupo C.

Foram observadas diferenças significativas no ganho de peso entre os grupos estudados ($C > D1 > D2 > D$), sendo que o grupo D, em média, perdeu peso. Não foram constatadas diferenças significativas quanto a duração da gestação e sim quanto ao número de recém-nascidos ($C = D1 > D2 > D$).

INTRODUÇÃO

São vários os fatores que podem ser assinalados como responsáveis pelo retardamento do crescimento fetal. Winick (1) considera que podem ser nitidamente separados em *intrínsecos*, decorrentes de malformações congênitas, erros inatos do metabolismo e outros problemas genéticos e *extrínsecos*, subdivididos em: tipo I, devido a insuficiência vascular uterino-placentária, que causa déficit assimétrico no crescimento fetal e tipo II, consequente, especificamente, da desnutrição materna, que leva a prejuízo de maneira simétrica em todos os órgãos.

Evidentemente, o tipo I ocorre com mais frequência em países desenvolvidos e o tipo II em locais subdesenvolvidos e em desenvolvimento. Ambas situações podem ser reproduzidas experimentalmente.

Naeye (2), estudando 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 inadequado, os fetos apresentavam-se com alterações intensas como: déficit do peso corporal, de estatura e do peso dos órgãos. Observaram também que em recém-nascidos com menos de 33 semanas, o peso materno antes da gravidez ou durante a mesma, não interferia nas medidas e pesos dos órgãos. Este trabalho demonstrou nitidamente a importância da nutrição

materna na fase final da gestação, uma vez que o feto ganha, no último trimestre, 670/o do seu peso corporal.

Miller e Hassanein (3), em humanos, também concluíram que o estado nutricional do feto estaria relacionado com aumento do peso materno, correspondente a 400 g/semana nos dois últimos trimestres.

Rosso e Streeter (4) verificaram em ratas desnutridas, diminuição na perfusão sanguínea materno-placentária, com prejuízo de transferência de nutrientes ao feto. Observaram nítida correlação, em ratas eutróficas, entre o acréscimo de peso corporal materno e do concepto, com o volume plasmático materno, não observando o mesmo para os grupos com restrição protéica ou global de ração.

A partir destas considerações objetivamos, no presente trabalho, verificar a influência da desnutrição protéico-calórica, em determinados períodos gestacionais em relação as seguintes variáveis: ganho de peso da gestante, tempo de gestação, número de recém-nascidos e correlações entre ganho de peso na gravidez e número da prole.

MATERIAL E METODOS

Utilizamos ratas virgens, Wistar, em idade de reprodução (90 dias), que foram colocadas em gaiolas comuns, recebendo água e ração normal para animais de laboratório (Batavo^R - 210/o de proteína) *ad libitum*, até o momento do acasalamento, sendo, para tal, sempre utilizado um lote de cinco machos.

A partir da comprovação do coito, pela observação de espermatozoides em esfregaço vaginal, foi considerado o dia zero de gestação e, neste momento, constituíram-se os seguintes grupos, por sorteio:

1 - Controle (C): recebeu ração normal⁷ *ad libitum* durante toda a gestação.

7 Composição química e constituição da dieta controle: umidade (máximo), 12,500/o; proteína bruta (mínimo), 20,000/o; extrato etéreo (mínimo), 3,500/o; materia fibrosa (máximo), 8,000/o; cálcio (máximo), 1,900/o; fósforo (mínimo), 0,350/o, e proteína animal (mínimo), 1,000/o.

Componentes básicos: milho moído, farinha de torta de soja, sub-produto de trigo, farinha de peixe, farinha de carne, bifosfato de cálcio, sal comum, vitaminas e micro-elementos minerais.

- 2 – Desnutrido (D): recebeu ração carente protéico-calórica⁸ (proteína 10/o) durante todo o período gestacional. A quantidade oferecida foi de 13 g/dia, sendo aproximadamente metade da quantidade ingerida pelo controle.
- 3 – Desnutrido na primeira metade da gestação (D1): igual ao grupo D, nos primeiros onze dias de gestação, a seguir como o grupo C.
- 4 – Desnutrido na segunda metade da gestação (D2): igual ao precedente, invertendo-se a ordem dos dias de desnutrição.

As ratas foram pesadas durante o período gestacional a cada três dias. Foram anotados, para todos os grupos, o peso inicial e final, assim como o ganho de peso durante a gestação. O peso final só foi considerado quando obtido pelo menos até um dia antes do nascimento.

No momento do parto, foram anotados a duração da gestação e o número da prole para cada grupo.

Os métodos estatísticos empregados foram os seguintes:

- 1 – Análise de variância univariada: utilizada para verificar efeito de tratamento para as variáveis pesos inicial e final e ganho de peso maternos. O contraste entre as médias dos tratamentos, nos casos em que o F calculado foi significativo, foi efetuado pelo método de Tuckey, conforme preconizado por Cochran e Cox (5). O teste escolhido é apropriado para números amostrais diferentes entre os tratamentos.
- 2 – Teste de Goodman (6, 7) para proporções multinomiais: utilizado para comparação de proporções entre distribuições multinomiais da duração da gestação, de acordo com o número de dias: 20, 21 e 22.
- 3 – Prova não paramétrica de Kruskal-Wallis: utilizada para variável número da prole, de acordo com Siegel (8). Para esta variável calculou-se também o menor e o maior valor (“range”), a mediana e a moda, valores estes de tendência central mais eficientes que a média, neste caso.
- 4 – Regressão linear (9): utilizada para discussão e a visualização

⁸ Composição química e constituição da dieta carente: amido (maizena), 890/o; proteína (caseína), 10/o; óleo de caroço de algodão, 50/o; óleo de fígado de bacalhau, 10/o mistura de sais minerais, segundo Hegsted *et al.* (15), 40/o, e vitaminas, segundo Manna e Hauge (16), 50 ml/kg.

da relação entre ganho de peso da mãe (x = variável independente) e o número de filhos (y = variável dependente).

Foram calculadas a equação de regressão ($y = a + bx$), o coeficiente de correlação (r), o coeficiente de determinação (r^2), e a estatística F , para testar a significância da regressão.

Serão apresentadas as regressões significativas para $\alpha = 0.05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Peso das Gestantes

Pudemos observar (Tabela 1) que antes do acasalamento não houve diferença significativa quanto ao peso inicial das ratas sendo, portanto, a amostra considerada homogênea. Entretanto, tornou-se claro que, após a instalação da desnutrição nos diferentes períodos de gestação, o peso final diferiu significativamente quando comparados entre si, assim como o ganho de peso materno.

O grupo D foi o que mais sofreu as consequências da desnutrição pois, em média, chegou a perder peso durante a gestação. A desnutrição na segunda metade da gestação (D2) interferiu de maneira acentuada na evolução normal da gravidez, pois as ratas ganharam apenas 37% do peso observado nos controles. No entanto, o grupo D1 apresentou comportamento bastante semelhante ao C, apesar da ração controle ser oferecida, apenas na metade final do período.

Os dados da evolução ponderal nos quatro grupos estudados mostraram os seguintes resultados relacionados ao ganho de peso das ratas, no decorrer da gestação: o grupo C apresentou menor ganho de peso na primeira metade da gestação (cerca de 35% do total) e conseqüentemente maior incremento na segunda metade (65%); o grupo D2 mostrou ganho de peso igual ao controle na primeira metade de gestação, em números absolutos, que no entanto, representou 92% do ganho de peso total, dada a desnutrição imposta na segunda metade da gestação; o grupo D1 mostrou perda de peso na primeira metade da gestação, sendo que todo o acréscimo ponderal ocorreu na segunda metade, maior inclusive, em números absolutos, do que no grupo C, entretanto, não acreditamos que este fato seja devido ao problema de troca das dietas pois em nenhum momento observamos rejeição e/ou

TABELA 1

PESOS EM GRAMAS INICIAL E FINAL E GANHO DE PESO DURANTE A GESTAÇÃO NOS QUATRO TRATAMENTOS¹

Grupos	D	D1	D2	C	Análise de variância
<i>Peso inicial</i>					
\bar{x}	206	207	210	204	F (0,05; 3, 140) = 2,60
S	7,912	8,622	9,598	12,267	F calc = 2,08
CV	3,836	4,156	4,571	6,000	Conclusão: a amostra é homogênea
N	49	25	43	27	
<i>Peso final</i>					
\bar{x}	201	293	248	304	F (0,05; 3, 118) = 2,60
S	10,564	19,558	16,716	35,194	F calc = 165,529*
CV	5,259	6,663	6,750	11,568	Conclusão:
N	39	25	37	21	(C = D1) > D2 > D
<i>Ganho de peso</i>					
\bar{x}	-5	86	38	100	F (0,05; 3, 118) = 2,60
S	7,242	17,558	12,296	25,543	F calc = 300,508*
CV	36,872	15,812	19,653	20,349	Conclusão:
N	39	25	37	21	C > D1 > D2 > D

1 Controle (C) e desnutridos, toda a gestação (D), na 1a. metade (D1) e na 2a. metade (D2). Média (\bar{x}), desvio-padrão (S), coeficiente de variação (CV), tamanho amostral (N), valores calculados e críticos de F.

* Significativo.

anorexia, por parte dos animais, em relação à dieta carente, portanto, supomos que o ocorrido seja um mecanismo de compensação devido a imposição da desnutrição na primeira metade da gestação; o grupo D apesar de um peso final menor do que o inicial não mostrou comportamento uniforme durante todo o período, havendo perda de peso no período inicial e pequeno ganho de peso na segunda metade. Estes aspectos podem ser melhor visualizados na Figura 1.

Como o tratamento dos animais foi o mesmo para todos os grupos, no que se refere a limpeza, troca diária de alimentos e água e como não observamos ocorrência de diarreias, infecções e/ou anorexia bem como rejeição da dieta carente instituída, certamente podemos afirmar que as diferenças observadas podem ser decorrentes da carência nutricional imposta.

DURAÇÃO NO PERÍODO GESTACIONAL

Não ocorreu diferença significativa na duração do período gestacional entre os quatro grupos estudados, como se pode verificar pela Tabela 2. Para todos os tratamentos houve maior concentração de nascimentos aos 21 dias.

No entanto, foi observado no grupo D, a ocorrência de morte durante o parto, o que não foi constatado nos outros grupos. Nesse caso, a gestação prolongou-se por mais de 22 dias, levando à morte da mãe e dos fetos.

Número de Recém-Nascidos (RN)

Foram constatadas diferenças significativas quanto ao número de RN (Tabela 3), sendo que o grupo D1 não diferiu significativamente quando comparado ao grupo C e ambos tiveram maior número de recém-nascidos por ninhada do que o grupo D2, que por sua vez foi maior que D.

Para o grupo D, é necessário assinalar que em trabalho anterior (10), verificamos a ocorrência frequente de canibalismo por parte das mães, se a ninhada não fosse, o quanto antes, retirada para ser amamentada por nutriz eutrófica. Portanto, como foi praticamente impossível observação ininterrupta, no momento do parto, não podemos descartar a possibilidade de que este fato possa ter ocorrido.

Turner (11) também observou número menor da prole em

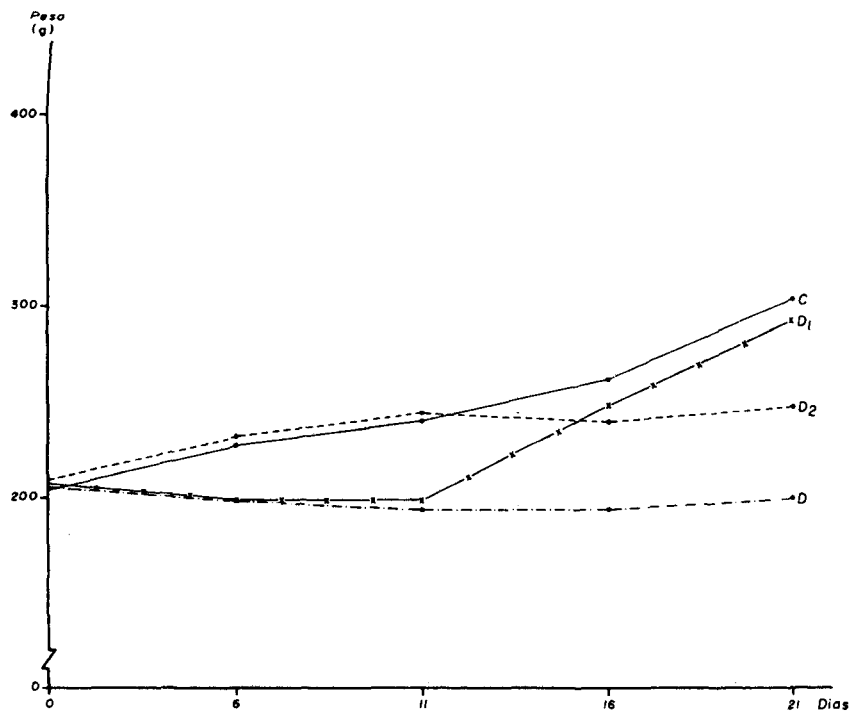


FIGURA 1

Médias do peso corporal materno durante o período gestacional para os quatro grupos investigados: controle (C) e desnutridos, toda a gestação (D), na 1a. metade (D1) e na 2a. metade (D2)

TABELA 2

PERCENTAGEM DA DURAÇÃO EM DIAS DO PERIODO GESTACIONAL DE RATAS SUBMETIDAS AOS QUATRO TRATAMENTOS¹

Grupo	Duração			No. de animais
	20	21	22	
Desnutrida toda a gestação (D)	—	67	33	48
Desnutrida na 1a. metade gestacional (D1)	—	79	21	24
Desnutrida na 2a. metade gestacional (D2)	—	77	23	43
Controle (C)	4	67	33	27

1 Conclusão da estatística G de Goodman (6).

Conclusão: Não foram constatadas diferenças entre os quatro grupos experimentais.

mães com restrição protéica na dieta e considera que isto ocorra devido a aborto e/ou reabsorção fetal, desde que nas fêmeas controles 78% das acasaladas chegaram ao termo a partir da comprovação do coito, em comparação a 33% nas desnutridas. Stewart e Sheppard (12) atribuíram aos mesmos motivos o menor número de filhotes encontrado em ratas desnutridas acreditando que, de alguma forma, esta situação venha a dificultar ou impedir o processo reprodutivo normal.

No presente trabalho, também verificamos no grupo D índice acentuadamente maior de ratas que, comprovadamente acasaladas, não chegavam ao termo, em comparação aos outros grupos estudados. Das 56 ratas nestas condições, 17,9% eram do grupo C; 8,9% do grupo D1, 19,6% do grupo D2 e 53,6% do grupo D.

Callard e Leathem (13), conseguiram manter a gravidez em ratas com desnutrição protéica mediante administração de estrógenos e prolactina, sugerindo que, na desnutrição, pode ocorrer redução de hormônios materno-hipofisários necessários à manutenção da gravidez.

TABELA 3

NUMERO DE RECEM-NASCIDOS POR NINHADA DE RATAS
SUBMETIDAS AOS QUATRO TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS¹

Grupos	"Range"	Mediana	Moda	Resultados
Desnutrida toda a gestação (D)	3 - 12	8	11	H= 123,126* x ² (0,05; 3)= 7,82
Desnutrida na 1a. metade gestacional (D1)	4 - 14	10,5	13	
Desnutrida na 2a. metade gestacional (D2)	4 - 14	9	11	
Controle (C)	4 - 15	11	11	

1 "Range", mediana, moda e resultado do teste de Kruskal-Walles.
Conclusão: (C = D1) > D2 > D.

Ainda pela Tabela 3, pode-se notar que o grupo D1 foi o menos afetado pela desnutrição, quanto ao parâmetro estudado, tendo inclusive apresentado o maior valor para a moda: 13 filhotes por ninhada, em comparação a 11 no controle.

A desnutrição imposta na primeira metade da gestação não determinou nenhuma manifestação clínica como ocorrido com o

grupo D: dificuldade respiratória, dependência de calor, dificuldade para mamar e palidez. O grupo D2, neste aspecto, foi bastante heterogêneo, alguns animais se comportando como os controles e outros como desnutridos, na mesma ninhada.

Em trabalho anterior (14) não observamos os mesmos resultados quanto á recuperação de ratas a partir da segunda metade da gestação. Isto talvez se deva ao fato de que, naqueles animais, os nascimentos não eram espontâneos e sim por cesariana e os dias de gestação foram contados como dia 1 no momento da comprovação do acasalamento e não como dia 0. Portanto, no referido trabalho, talvez tenhamos obtido um número relativamente grande de ratos prematuros dificultando, desta forma, a perfeita recuperação dos fetos que, conseqüentemente, não conseguiram alcançar completamente o desenvolvimento dos controles.

Relação Ganho de Peso x Número de RN (Tabela 4)

Foi constatada correlação apenas nos grupos C e D2, sendo que no controle esta foi muito mais acentuada ($r = 0,686$ em comparação a $0,236$ para o grupo D2).

No grupo controle o ganho de peso materno e gradual no decorrer da gestação e diretamente relacionado ao número de filhos. Entretanto, esta característica se perde no desnutrido (D), fato evidentemente esperado pois neste grupo as ratas chegaram a perder peso no mesmo período. No grupo D1, pode-se supor que o ganho de peso na recuperação (segunda metade) não se relacione mais com o número da prole e seja apenas uma compensação do período de carência imposto no início da gestação. Esta situação é contrária à do grupo D2, que até a primeira metade tinha um comportamento idêntico ao controle e que passou a ter restrição alimentar a partir desse momento. Este fato, talvez explique a ocorrência de correlação, porém muito menos acentuada que para o controle.

TABELA 4

RELAÇÕES SIGNIFICATIVAS ENTRE GANHO DE PESO MATERNO (X) E NUMERO DA PROLE (Y) DE RATAS SUBMETIDAS A DOIS TRATAMENTOS DURANTE A GESTAÇÃO¹

Grupo	Equação	r	r ²	Fcalc	Fcrit
Desnutrida na 2a. metade gestacional (D2)	$y = 4,263 + 0,071 X$	0,326	0,106	4,165*	3,84
Controle (C)	$y = 4,425 + 0,052 X$	0,686	0,471	16,897*	4,38

1 Equação de regressão, coeficiente de correlação (r), coeficiente de determinação (r²), F calculado (F calc) e F crítico (Fcrit).

SUMMARY

INTRAUTERINE MALNUTRITION IN RATS: I. REPERCUSSION IN BODY WEIGHT GAIN, DURATION OF PREGNANCY AND NUMBER OF OFFSPRING

Rats were submitted to protein-caloric deprivation during different periods of gestation. Maternal body weight gain, duration of pregnancy and number of offspring were evaluated. Rats of the control group (C) were fed *ad libitum* (protein 21%), and rats of the experimental groups were fed during all gestational period (D), during the first half (D1) or second half of pregnancy (D2) with a diet containing 10% of protein, and the intake was reduced to 50%.

We concluded that malnutrition during pregnancy induced lower maternal weight (C > D1 > D2 > D) and lower number of offspring ([C = D1] > D2 > D). No differences were observed in the duration of pregnancy in all groups studied.

BIBLIOGRAFIA

1. Winick, M. Cellular changes during placental and fetal growth. **Am. J. Obst. Gynecol.**, **109**: 166-176, 1971.
2. Naeye, R. L. Effects of maternal nutrition of the human fetus. **Pediatrics**, **52**: 494-503, 1973.
3. Miller, H. C. & K. Hassanein. Fetal malnutrition in white newborn infants; maternal factors. **Pediatrics**, **52**: 504-512, 1973.
4. Rosso, P. & M. R. Streeter. Effects of food or protein restriction on plasma volume expansion in pregnant rats. **J. Nutr.**, **109**: 1887-1892, 1979.
5. Cochran, W. G. & G. M. Cox. **Experimental Designs**. 2nd ed. New York, N.Y., John Wiley & Sons Inc., 1957, 611 p.
6. Goodman, L. A. Simultaneous confidence intervals for contrasts among multinomial populations. **Ann. Mathem. Stat.**, **32**: 716-725, 1964.
7. Goodman, L. A. On simultaneous confidence intervals for multinomial populations. **Technometrics**, **7**: 247-254, 1965.
8. Siegel, S. **Estatística não Paramétrica**. São Paulo, Brasil, McGraw Hill do Brasil Ltda, 1975, 350 p.
9. Hoffmann, R. & S. Vieira. **Análise de Regressão**. São Paulo, Brasil, Ed. Hucitec - USP, 1977, 339 p.
10. Tonete, S. S. Q. & F. J. Nóbrega. Metabolismo (lipídeos totais, proteínas e colesterol) do cérebro de ratos jovens e adultos submetidos à desnutrição fetal. Estudo na desnutrição e recuperação nutricional. **J. Ped.**, **45**: 18-30, 1978.
11. Turner, M. R. Perinatal mortality, growth and survival to weaning in offspring of rats reared on diets moderately deficient in protein. **Br. J. Nutr.**, **29**: 139-146, 1973.
12. Stewart, R. J. C. & H. G. Sheppard. Protein caloric deficiency in rats. Growth and reproduction. **Br. J. Nutr.**, **25**: 175-180, 1971.
13. Callard, I. P. & J. H. Leatham. Pregnancy maintenance in protein deficient rats. **Acta Endocrinol. (Kbh)**, **63**: 539-544, 1970.
14. Tonete, S. S. Q., C. A. R. Coelho & F. J. Nóbrega. Desnutrição fetal experimental em ratos: Efeitos sobre o peso corporal, o peso cerebral, o teor de lipídios totais, proteínas e colesterol no cérebro. **J. Ped.**, **44**: 213-221, 1978.
15. Hegsted, O. M., R. C. Mills, C. A. Elvehjem & E. B. Hart. Choline in the nutrition of chicks. **J. Biol. Chem.**, **138**: 459-466, 1951.
16. Manna, L. & S. M. Hauge. A possible relationship of vitamin B₁₃ to orotic acid. **J. Biochem.**, **202**: 91-96, 1953.