

Pesquisa translacional em diabetes melito gestacional e hiperglicemia gestacional leve: conhecimento atual e nossa experiência

Translational research in gestational diabetes mellitus and mild gestational hyperglycemia: current knowledge and our experience

Marilza Vieira Cunha Rudge¹, Fernanda Piculo¹, Gabriela Marini¹, Débora Cristina Damasceno¹, Iracema Mattos Paranhos Calderon¹, Angélica Pascon Barbosa¹

RESUMO

O diabetes materno constitui um ambiente desfavorável para o desenvolvimento embrionário e feto-placentário. É uma repercussão de importância na obstetrícia moderna, visto que está associado a um risco aumentado de morbidade materna e neonatal e continua a ser um desafio médico significativo. O aumento mundial na incidência do diabetes, o aumento do diabetes tipo 2 em mulheres em idade reprodutiva e a geração cruzada da programação intrauterina do diabetes tipo 2 são as bases para o interesse crescente na utilização de modelos experimentais diabéticos, a fim de obter conhecimento sobre os mecanismos que induzem as alterações de desenvolvimento no diabetes gestacional. Vários estudos têm demonstrado os benefícios da prevenção do diabetes com intervenções no estilo de vida, melhora metabólica e controle de fator de risco cardiovascular para evitar substancialmente as complicações devastadores da doença. Apesar desses achados e a revolução recente no conhecimento científico e infinidade de novas terapias do diabetes, continua a haver uma grande lacuna entre o que foi aprendido por meio da pesquisa e o que é feito na prática da saúde pública, clínica e comunitária. O iminente impacto econômico negativo dessa complacência nos indivíduos, nas famílias e nas economias nacionais é alarmante. Espera-se que a pesquisa translacional no binômio diabetes-gravidez seja implementada em centros de excelência tanto de pesquisa básica como aplicada e complementada por estudos clínicos multicêntricos, conduzidos de forma pragmática para aumentar o nível de evidência científica com recursos diagnósticos e propedêuticos mais confiáveis. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2013;57(7):497-508

Descritores

Diabetes; gestação; modelos animais; pesquisa translacional; incontinência urinária

ABSTRACT

Maternal diabetes constitutes an unfavorable environment for fetal-placental and embryonic development. It has important repercussion in modern obstetrics, since it is associated to an increased risk of neonatal and maternal morbidity, and it still is a significant medical challenge. The increased occurrence of diabetes worldwide, the increase in diabetes type 2 in women at reproductive age and the crossed generation of intrauterine programming for diabetes type 2 are the bases for the growing interest in utilization of diabetic experimental samples, with the aim to acquire knowledge about the mechanisms that induce development alterations in gestational diabetes. Several studies have shown the benefits of diabetes prevention, with interventions in lifestyle, metabolic improvement and control of cardiovascular risk factors to substantially prevent the complications of this devastating disease. Despite these findings, the recent revolution in the scientific knowledge, and the infinite number of new therapies for diabetes, there is still a large gap between what was learned through research and what is really done in public, clinical and community health. The negative economic impact of this complacency in people, families, and national economies is alarming. It is expected that translational research in the binomial diabetes and pregnancy are implemented in centers of excellence, in both basic and applied research, and complemented by multicenter clinical studies, conducted in a pragmatic way to increase the level of scientific evidence with more reliable diagnostic and propaedeutic resources. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2013;57(7):497-508

Keywords

Diabetes; pregnancy; animal models; translational research; urinary incontinence

¹ Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita (Unesp), Botucatu, SP, Brasil

Correspondência para:

Marilza Vieira Cunha Rudge
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Distrito de Rubião Jr. s/n 18618-000 – Botucatu, SP, Brasil
marilzarudge@gmail.com

Recebido em 16/Jan/2013
Aceito em 29/Maio/2013

INTRODUÇÃO

No século XXI, as pesquisas em obstetrícia estão voltadas para a solução de diversos problemas, entre os quais se destaca a epidemia de diabetes e obesidade no mundo, que tem repercutido no aumento das gestações complicadas por diabetes (1). Diabetes melito gestacional (DMG) é uma doença frequente na gestação, presente em cerca de 7% de todas as gestações e varia entre 1% e 14% de acordo com a população estudada e com os critérios diagnósticos utilizados. No Brasil, estima-se que 2,4% a 7,2% de todas as gestantes desenvolvem DMG, o que significa mais de 200.000 casos novos por ano (2). Vários autores mostraram a necessidade de se identificar as mulheres com potencial para desenvolver DMG devido ao maior risco de complicações maternas e fetais (3,4). Existe clara evidência de que a exposição fetal ao ambiente intrauterino adverso aumenta a suscetibilidade de desenvolvimento de doenças crônicas na vida futura. Mulheres com DMG e seus descendentes são mais propensas a desenvolver síndrome metabólica ou diabetes melito tipo 2 (DM2) na vida futura (5). O DMG está também associado com altos níveis de incontinência urinária (IU) e disfunção muscular do assoalho pélvico, entretanto, ainda não estão bem definidos os mecanismos pelos quais o DMG contribui para a IU.

Apesar da revolução recente no conhecimento científico e infinidade de novas terapias do DMG, há grande lacuna entre o que foi encontrado nas pesquisas e o que é feito na prática da saúde pública, clínica e comunitária (6,7). Os modelos experimentais, que têm por objetivo aumentar o conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos das doenças que afetam seres humanos, podem levar ao desenvolvimento de estratégias de tratamento para manter o metabolismo desse ambiente intrauterino o mais próximo possível do normal e melhorar o desenvolvimento perinatal a curto e longo prazo (8). Esses modelos experimentais permitem também o aprofundamento do conhecimento das repercussões do DMG no organismo materno.

O DMG é um bom exemplo para se analisar a pesquisa translacional visto que é uma das principais causas de morbidade e mortalidade perinatal, bem como da repercussão a longo prazo na vida da mulher (9-12). A intrínca relação entre o que se observa na prática da atividade clínica e o que se obtém de resultados em pesquisa clínica e de investigação em ciência básica deve ser organizada e analisada dentro de um contexto único que, nos dias de hoje, é denominado “Pesquisa Translacional”.

PESQUISA TRANSLACIONAL

Nas últimas décadas, as iniciativas para o desenvolvimento da pesquisa em saúde têm se multiplicado em todo o mundo com o objetivo de melhorar a qualidade da assistência prestada, a segurança dos pacientes e influenciar políticas de saúde mais efetivas. Pesquisas baseadas em evidências, pesquisas clínicas e revisões sistemáticas têm o mesmo objetivo: responder a questões da prática profissional trazendo a ciência para a prática clínica. Porém, a despeito de todo o conhecimento produzido, do financiamento e do envolvimento dos pesquisadores, existe uma distância entre esses e a implementação dos resultados das pesquisas realizadas (13). A pesquisa translacional ou, no seu original em inglês, *translational research*, surge para tentar romper essa distância e aproximar o pesquisador dos campos da prática (13).

Pesquisa translacional é termo utilizado para descrever o espectro de investigação científica destinada a: 1) transferência de descobertas laboratoriais sobre os mecanismos da doença em novos métodos para diagnosticar, prevenir e tratar doenças e testar esses métodos em seres humanos – é a fase descrita como “*bench to bedside*” (14), 2) trazer os resultados dos estudos para a prática clínica e compreender a eficácia e a disseminação de intervenções nos cuidados à saúde – é a fase descrita como “*clinical research to real-world practice*” (15) e 3) utilizar o conhecimento adquirido para melhorar a política de saúde (16). Um outro espectro deveria ser incorporado, destinado a investigar achados clínicos novos ou doenças emergentes com a criação de novos modelos experimentais – é a fase que seria descrita como “*bedside to bench*”. Assim teremos na pesquisa translacional: do “*bench to bedside*” (14), do “*clinical research to real-world practice*” (15) e do “*bedside to bench*”. A pesquisa translacional pode ser considerada um mecanismo para transformar o conhecimento disponível em medidas úteis para a prática da saúde clínica e pública diárias (17).

A mudança é determinada de acordo com a forma como são transmitidos os novos conhecimentos: desde o ideal até o subótimo possível que permite que o sistema de saúde incorpore e que os médicos recebam os *guidelines* que os auxiliarão no atendimento ao doente (18). As organizações governamentais e não governamentais têm a responsabilidade de comunicar estratégias comprovadas e avaliá-las nas comunidades do mundo real por meio da pesquisa translacional. Esta

permite avaliar os padrões de atendimento, entender as barreiras da sua implementação e intervir em todos os níveis de prestação de cuidados de saúde para melhorar a qualidade dos serviços, bem como a qualidade de vida. Existem pelo menos três aspectos necessários para o sucesso na implementação clínica da pesquisa translacional: o paciente, o provedor e o sistema de saúde atuando em conjunto de modo flexível para os ajustes necessários (19).

Embora o termo Pesquisa Translacional seja recente, a noção de “transferência de resultados de pesquisa” vem sendo discutida desde as décadas de 1970 e 1980 nos Estados Unidos e também no Brasil, nos Seminários Nacionais de Pesquisa (20). A primeira publicação sobre pesquisa translacional foi veiculada no editorial do *Journal of the American Medical Association* (JAMA) em 2002, quando foi declarada essencial para melhorar a saúde humana – “necessidade de tradução de novos conhecimentos, mecanismos e técnicas geradas pelo avanço nas pesquisas básicas de modo a oferecer novas possibilidades de prevenção, diagnóstico e tratamento das doenças”. A partir dessa publicação, as demais áreas da saúde passaram a se questionar mais acuradamente sobre formas de conduzir esse tipo de pesquisa para a prática assistencial (21).

Em 2005, foi criado o *The Translational Research Working Group* (TRWG) (Grupo de Trabalho em Pesquisa Translacional), ligado ao Instituto Nacional de Câncer dos Estados Unidos, com o objetivo de incentivar e financiar pesquisas translacionais nessa área específica. A Universidade de Washington criou, em 2007, o *Institute of Translational Health Sciences* (ITHS) (Instituto de Ciências Translacionais) para o fortalecimento da medicina genética. Também foram criados dois periódicos em 2009, o *Translational Research – The Journal of Laboratory and Clinical Medicine* e o *The American Journal of Translational Research* (22,23).

PROBLEMÁTICA DA PESQUISA TRANSLACIONAL NA PRÁTICA CLÍNICA

A importância da política de saúde e práticas de assistência à saúde na melhor evidência internacional disponível (“assistência à saúde baseada em evidências”) e a tradução do conhecimento ou evidências em ação (“ciência translacional” ou “pesquisa translacional”) estão sendo enfatizadas em todos os setores de saúde interna dos países. Saúde baseada em evidências é um processo que identifica questões políticas ou clínicas e aborda essas

questões na geração de conhecimento e evidências eficazes e adequadas para fornecer cuidados à saúde de maneira eficaz, viável e significativa para populações e culturas específicas. Essa evidência é avaliada, sintetizada e transferida para os ajustes de prestação de serviço aos profissionais de saúde que, em seguida, utilizam e avaliam seu impacto sobre os resultados da saúde, sistemas de saúde e a prática profissional (24). Há sete anos o Ministério da Saúde (MS) no Brasil financia, a partir de contratações diretas ou chamadas públicas com o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a produção de revisões sistemáticas de temas priorizados pelos gestores de saúde para subsidiar a tomada de decisão. Segundo Elias (2012) ainda é baixa a utilização das revisões sistemáticas como informação para decisão no comitê de incorporação de tecnologias do MS no Brasil (25).

Os desafios para facilitar o ciclo de descoberta científica via inovação nos cuidados à saúde tornaram-se uma preocupação central para os indivíduos e comunidades que procuram ou precisam de saúde, profissionais de saúde, decisores políticos e financiadores dos serviços de saúde. Na verdade, a interface entre as necessidades de conhecimento para identificar a melhoria da saúde, pesquisa científica pura, pesquisa baseada em estudo clínico e, finalmente, a implementação dos resultados da investigação em alguma forma de resultado pragmático é fonte crescente de angústia permanente em pesquisa clínica e comunitária. É um investimento vital que, se bem-sucedido, tem o potencial para resultar em melhorias dramáticas nos resultados globais de saúde (24).

Apesar dos avanços importantes na biologia fundamental, existe preocupação generalizada com a lentidão que essas descobertas são traduzidas em intervenções clínicas seguras e eficazes. O *National Institutes of Health* (NIH) estima que 80% a 90% dos potenciais terapêuticos em testes pré-clínicos detectam problemas que os impedem de avançar para a fase de ensaio clínico. Numerosas iniciativas para acelerar essa fase estão em andamento para fornecer aos pesquisadores clínicos o conhecimento e ferramentas necessárias na tradução das descobertas da pesquisa em melhor atendimento ao paciente (16). A criação da Rede Nacional de Pesquisa Clínica no Brasil é um exemplo das iniciativas do MS para acelerar a implementação de novos fármacos e novos métodos diagnósticos no Sistema Único de Saúde (SUS).

No entanto, uma série de obstáculos – científico, institucional, cultural e político – limita as oportuni-

des para os investigadores básicos conduzirem a ciência translacional. Este trabalho é mais bem realizado com as colaborações multi e interdisciplinares, que podem ser difíceis de estabelecer e de se manter no ambiente de pesquisa atual.

Para tratar dessas questões, a Federação das Sociedades Americanas de Biologia Experimental (FASEB) realizou um simpósio em março de 2011 que reuniu os pesquisadores e estagiários de pesquisa básica, chefes de departamento e líderes de diversas instituições de pesquisa acadêmica, líder das organizações de financiamento de pesquisas públicas e privadas, organizações de investigação farmacêutica, sociedades científicas e editores científicos. Os participantes exploraram os benefícios de se engajar cientistas básicos na pesquisa translacional, os obstáculos que se interpõem em seu caminho e os papéis que as instituições de pesquisa, financiadores, sociedades profissionais e os editores científicos podem desempenhar para ajudar os cientistas básicos a superar esses obstáculos. Em conclusão, o treinamento adicional, os recursos e o apoio permitirão aos cientistas básicos mover as suas descobertas para a frente de forma eficaz e eficiente. A comunidade de pesquisa deve ampliar as oportunidades de pesquisa translacional para pesquisadores básicos, que atuam na pesquisa de bancada e estagiários; facilitar seu acesso ao financiamento, equipamentos, infraestrutura e outros recursos necessários para a tradução; incentivar e apoiar a colaboração entre investigadores básicos e clínicos por meio das disciplinas de pesquisa e setores, reconhecer e premiar cientistas básicos para as contribuições que fazem para esse campo em expansão (16).

A pesquisa translacional está se dirigindo a um dos principais desafios do mundo médico e educacional de hoje: reduzir as lacunas entre o conhecimento científico e as estratégias efetivas nos cuidados à saúde que melhorem os resultados dos pacientes (17).

DMG, HIPERGLICEMIA GESTACIONAL LEVE E PESQUISA TRANSLACIONAL

Os riscos associados com o DMG são bem reconhecidos, no entanto o impacto na saúde materna e neonatal precisa ser mais bem esclarecido. Mulheres com diabetes gestacional são classificadas como grávidas de risco, pois apresentam altos índices de morbidade e maior potencial para intolerância à glicose, identificando população de mulheres com alto risco de desenvolver DM2 após a gravidez (26).

A pergunta que levou nosso Grupo de Pesquisa Acadêmico “Diabete e Gravidez – Clínico e Experimental” a iniciar pesquisa translacional foi a identificação de grupo de gestantes que não atingiam os critérios de diagnóstico de DMG, mas apresentavam hiperglicemia ao longo do dia após ingestão de dieta constituída por carboidratos, lipídios e proteínas. Os recém-nascidos dessas gestantes tinham as mesmas repercussões perinatais dos nascidos de mães com DMG (28,29), com ênfase especial à macrossomia e mortalidade perinatal. Ao longo dos anos também foram identificadas três outras características dessas gestantes: 1) risco de desenvolver DM2 após 10 a 12 anos da gestação índice era similar ao das DMG; 2) hiperinsulinemia persistente após o parto nas gestantes com hiperglicemia gestacional leve (HGL); 3) características clínicas ao nascimento e ao longo da vida dessas mulheres, sugerindo que ambos os grupos (DMG e HGL) eram similares e apresentavam características da síndrome metabólica.

Estudos em seres humanos que exploram os mecanismos responsáveis por alterações causadas pelo diabetes na gravidez são limitados por razões éticas e também pela multiplicidade de variáveis não controladas que podem modificar o ambiente intrauterino (30). Restrições éticas não permitem que aspectos invasivos fundamentais sejam explorados, assim, há necessidade de modelos animais apropriados para melhor compreensão do diagnóstico, fisiopatologia e novos fármacos para o tratamento do diabetes.

DMG E AS REPERCUSSÕES MATERNAS, NEONATAIS E PLACENTÁRIAS NOS MODELOS EXPERIMENTAIS

Macrossomia e mortalidade perinatal

A experiência inicial em Pesquisa Translacional foi relacionada com a montagem de modelo experimental para reproduzir a macrossomia fetal encontrada nas gestantes com DMG e nas portadoras de HGL.

A primeira dificuldade foi a obtenção de animais prenhes diabéticos, pois as ratas com diabetes grave não ciclam e, portanto, a obtenção de prenhez é difícil, sendo necessário utilizar grande número de animais nos experimentos (31). Após o domínio inicial das técnicas de indução do modelo de diabetes e prenhez, diversos projetos foram realizados em nosso laboratório de pesquisa experimental para avaliar os resultados maternos, placentários e fetais do diabetes na prenhez de ratas. O pioneiro foi a tese de mestrado de Calderon em 1983, utilizando

do os dois modelos de diabetes grave e moderado que avaliaram as repercussões maternas, fetais e placentárias, diferentes nos dois níveis de hiperglicemia (31).

Outras dificuldades apareceram quando as ratas com diabetes grave mostraram-se modelos de restrição de crescimento intrauterino e apenas as ratas com diabetes moderado apresentaram macrossomia fetal após indução do diabetes com aloxana (dose de 42 mg/kg). Para a identificação dessa macrossomia fetal, foi necessário classificar os pesos dos recém-nascidos (RN), de acordo com a média $\pm 1,0$ x desvio-padrão (DP) dos pesos corporais obtidos do grupo controle, que determinou três classes diferentes de RN dentro dos grupos estudados: pequeno para idade de prenhez (PIP), cujo peso foi inferior à média $-1,0$ x DP; adequado para idade de prenhez (AIP), cujo peso foi compreendido entre a média $\pm 1,0$ x DP e grande para a idade de prenhez (GIP), cujo peso foi maior que a média $+1,0$ x DP (32).

O grupo diabetes grave apresentou menor número de fetos vivos, aumento do número de mortes embrionárias e alta taxa de perda pós-implantação. O modelo de diabetes grave na prenhez, caracterizado pela restrição do crescimento intrauterino, reproduziu os resultados maternos e fetais de gestantes com diabetes clínico não controlado (33,34).

O grupo diabetes moderado apresentou maior peso fetal e recém-nascidos grandes para a idade de prenhez simulando o DMG e a HGL. O modelo de diabetes moderado causou hiperglicemia leve durante a prenhez similar ao das gestantes com DM2 ou DMG e, embora seja modelo de macrossomia fetal, os percentuais de fetos macrossômicos não ultrapassaram 50% (8). O comportamento desses níveis de hiperglicemia evidencia a intolerância à glicose no terço final da prenhez, época do aparecimento do DMG (35).

Muito interessantes também foram os resultados dos pâncreas fetais. Os provenientes de ratas com diabetes moderado tinham ilhotas pancreáticas maiores, com grande quantidade de insulina. Os pâncreas de filhotes de ratas com diabetes grave, embora com ilhotas de maior dimensão, não apresentavam insulina; a ilhota entrou em falência total liberando toda a insulina produzida. Esse achado explica que o modelo do diabetes moderado está relacionado à hipoglicemia neonatal, enquanto nos casos de diabetes grave há o aparecimento de hiperglicemia fetal no berçário que precisa ser tratado com insulina (36).

Na tentativa de melhorar o resultado nos modelos experimentais em relação à macrossomia fetal, outros

modelos experimentais foram realizados em nosso laboratório para esclarecer os efeitos do diabetes moderado na prenhez de ratas e, conseqüentemente, possibilitar melhor entendimento clínico. Em decorrência dos efeitos adversos da aloxana e da pouca margem de segurança entre a dose letal e a dose eficaz para obtenção do quadro diabético, foi utilizada a droga beta-citotóxica *streptozotocin* (STZ), que é capaz de inibir a síntese de pró-insulina nas células β -pancreáticas, não causa dano em outros tecidos do organismo e mostra ser mais eficaz para indução do modelo de diabetes experimental. Iessi e cols. observaram que a indução do diabetes moderado no período neonatal alterou o desenvolvimento fetal, caracterizado por restrição de crescimento intrauterino e níveis glicêmicos que não levaram aos principais defeitos congênitos nos fetos de ratas diabéticas (37). Saito e cols., com outro modelo de indução de diabetes moderado (administração de STZ no período neonatal e na prenhez), constataram impacto negativo sobre o desempenho reprodutivo materno, restrição de crescimento intrauterino e desenvolvimento fetal prejudicado (38). Sinzato e cols. confirmaram que o ambiente hiperglicêmico materno causou alterações metabólicas, incluindo aumento de triglicérides e colesterol total e elevação do estresse oxidativo, contribuindo para aumentar anomalias viscerais fetais (39).

Vários grupos de pesquisa evidenciam estudos experimentais com incidência de 60% a 75% de macrossomia nas ninhadas de animais diabéticos (40,41). Em nosso laboratório, após várias tentativas usando modelos descritos na literatura e avaliando os resultados obtidos, foi verificado que o modelo que mais se aproxima do DMG é o do diabetes induzido por STZ no período neonatal, na dose de 100 mg/kg no 1º dia de nascimento por via subcutânea (39).

Na pesquisa translacional, os modelos animais fornecem o caminho, mas cabe aos pesquisadores utilizarem modelos mais adequados em experiências construídas e com base em hipóteses que permitam a interpretação correta em torno de problemas clínicos sob investigação. As investigações em pesquisa translacional com animais devem ser integradas com perguntas decorrentes das observações em humanos e os achados pré-clínicos validados (42).

Imaturidade pulmonar fetal

É bastante difundida a elevada prevalência de distúrbios respiratórios em filhos de mães diabéticas. Em es-

tudo clínico, De Luca e cols., ao avaliar a influência do controle glicêmico sobre a maturidade pulmonar fetal em gestações acometidas por diabetes ou hiperglicemia leve, demonstraram que houve atraso na maturidade pulmonar fetal quando o controle glicêmico era inadequado, sugerindo que, nas gestações a termo, a rotina de amniocentese para a avaliação da maturidade pulmonar fetal deve ser abandonada, mas deve ser recomendada em gestações pré-termo ou quando o controle glicêmico é inadequado (43).

O estudo experimental de Sá mostrou que os homogenatos de pulmões de filhotes de ratas com diabetes moderado e grave apresentaram as mesmas concentrações de lecitina e esfingomiélinina em relação ao grupo controle. Essas concentrações similares explicam a ocorrência de aceleração da maturidade pulmonar no diabetes grave, que é modelo de restrição de crescimento fetal, ou seja, que o menor peso do pulmão fetal com a mesma concentração de fosfolipídios acelera a maturidade pulmonar fetal. Por outro lado, na macrosomia fetal, o maior peso pulmonar fetal associado à mesma concentração de fosfolipídios explica o atraso da maturidade pulmonar fetal em filhos macrossômicos de diabéticas (44).

Esses estudos mostram que as pesquisas de bancada estão muito próximas dos resultados das pesquisas clínicas e demonstram a importância das pesquisas translacionais.

Distúrbios metabólicos

A macrosomia, então considerada um dos principais resultados do diabetes materno, está associada a distúrbios metabólicos, como o lipídico e o antioxidante (45). Vários estudos clínicos têm mostrado que, quando comparados com os valores normais, as mães DMG assim como as mães controle exibiram hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia durante a gravidez e não houve diferença significativa entre mulheres saudáveis e diabéticas (45-47). No entanto, os bebês macrossômicos mostraram altos níveis de triglicerídeos e colesterol sérico total e livre em comparação aos bebês controle (46,47). O diabetes experimental também tem sido prejudicial ao metabolismo lipídico materno e fetal. A prenhez em ratas diabéticas está associada com o aumento de triglicérides e colesterol total séricos. Filhotes macrossômicos e obesos de ratas diabéticas têm maior quantidade de tecido adiposo, juntamente com altos teores de lipídios do tecido adiposo e mostram altos ní-

veis de soro e lipídios hepáticos (32,40,41). Lopez-Soldado e Herrera demonstraram que os recém-nascidos de mães diabéticas de intensidade moderada também apresentaram maior peso corporal, maiores concentrações corporais de insulina plasmática e triglicérides no fígado, assim como maiores concentrações de lipídios totais em comparação às ratas controles (30). Assim, o diabetes materno e a macrosomia induzem alterações no metabolismo lipídico.

Estresse oxidativo

Uma das primeiras alterações observadas em pacientes com diabetes é o envolvimento do estresse oxidativo. Além disso, os fetos de mães com diabetes gestacional têm maior risco de desenvolver hiperagregabilidade plaquetária e estresse oxidativo. Elevados níveis de glicemia nesses recém-nascidos induzem o estresse oxidativo, que, por sua vez, induzem a produção de radicais de oxigênio altamente reativos, sendo tóxico para as células, particularmente para as membranas plasmáticas na quais esses radicais interagem com a bicamada lipídica (45). Estudos clínicos indicam que o DMG está associado com as atividades da superóxido dismutase (SOD) prejudicada e aumento dos níveis séricos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARSs), sugerindo um aumento do estresse oxidativo (47). Em modelos experimentais, vários autores também demonstraram atividades antioxidantes enzimáticas e níveis diminuídos de vitamina em ratas diabéticas induzidas por *streptozotocin* (48,49). No nosso grupo de pesquisa, Dallaqua e cols. avaliaram o estado de estresse oxidativo na prenhez a termo de ratas diabéticas e os resultados mostraram que as concentrações de malondialdeído (MDA) foram maiores no grupo diabético em relação ao grupo controle. No entanto, não foi observada alteração nas atividades enzimáticas da SOD e glutatona peroxidase (GSH-Px) e na concentração dos grupos tiol (50). Outro estudo do mesmo grupo de pesquisa, realizado no final da prenhez de ratas diabéticas, demonstrou que a atividade enzimática da SOD foi menos eficaz enquanto a concentração de MDA (peroxidação dos lipídios) foi ligeiramente aumentada no grupo diabético (51). Sinzato e cols., usando metodologia similar de Damasceno e cols., não detectaram alterações na atividade enzimática de TBARS e SOD (52).

Os dados do HAPO e as pesquisas do nosso grupo com as gestantes portadoras de HGL mostram que não

apenas as DMG mas também as portadoras de HGL precisam ser diagnosticadas e tratadas para que o meio intrauterino hiperglicêmico se normalize. O controle do DMG e da HGL é essencial para a saúde materna e para o desenvolvimento fetal. Diante disso, a preocupação da maioria dos pesquisadores durante a última década foi explorar a fisiopatologia da relação entre as condições de saúde dos filhos nascidos de gravidez complicada por diabetes e das estratégias de diagnóstico e de tratamentos eficazes (41).

AUMENTO DA INCONTINÊNCIA URINÁRIA EM DIABÉTICAS PÓS-PARTO CESÁREA E PESQUISA TRANSLACIONAL

As repercussões do diabetes e da hiperglicemia no trato urinário inferior estão entre as complicações mais comuns, afetando cerca de 80% dos pacientes (53). Distúrbios do assoalho pélvico estão entre as consequências mais comuns e onerosas do diabetes, incluindo incontinência urinária (IU), infecções do trato urinário, perda de sensação da bexiga, retenção urinária e disfunção sexual (54).

Achados clínicos do Grupo Acadêmico “Diabete e Gravidez – Clínico e Experimental, Unesp” demonstraram que dois anos após parto cesárea houve aumento da prevalência de IU e diminuição da pressão de contração vaginal em mulheres com DMG prévio (44,4% e 53,9%) comparadas às de controles normoglicêmicas (18,4% e 37,8%) (27). Não há relatos na literatura sobre o significado clínico materno dessa IU na gestação nem das possíveis correlações entre sua ocorrência e o desfecho materno e perinatal (55). Esses relatos da associação do DMG e IU são recentes na literatura, pouco reconhecidos e pouco valorizados pela classe médica, porém são surpreendentes e direcionam para a necessidade de aprofundar o conhecimento da associação DMG e IU com o uso da pesquisa translacional (27).

Apesar dos inúmeros fatores de risco envolvidos no desenvolvimento da IU, a associação com o diabetes é de grande interesse (56). Vários estudos epidemiológicos vêm apontando o aumento de risco (50% a 200% mais comum) de IU entre mulheres com DM2 em comparação às mulheres com glicemia normal (57). Entretanto, os mecanismos pelos quais o DM contribui para a IU ainda não estão bem definidos. Sabe-se que o DM induz mudanças funcionais, metabólicas e estruturais no músculo esquelético, reduz a capacidade

de funcional do músculo levando à fraqueza muscular, causa distúrbios metabólicos caracterizados por redução na captação de glicose e oxidação de ácidos graxos e leva à mudanças estruturais como atrofia, aumento na deposição de lipídios, diminuição do volume de mitocôndrias, bem como transformação nos tipos de fibras musculares (58,59).

Há relação temporal entre o diagnóstico do DM2 e o subsequente desenvolvimento da fraqueza muscular associada com complicações como a amiotrofia diabética. A hiperglicemia pode, portanto, afetar a função contrátil e a geração de força no músculo (60). Kim e cols. também verificaram que 49% das diabéticas gestacionais relataram IU durante a gestação e 28% relataram que esta IU afetava sua atividade diária. Concluíram que a IUE é comum entre mulheres com DMG e parece não estar associada com os níveis de atividade física ou índice de massa corpórea (61).

O “*Bladder Research Progress Review Group*” pelo “*National Institutes of Health*” e “*National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases*” relata que “pelo fato de o diabetes alterar significativamente o trato urinário, uma grande parcela de pessoas que tem essa doença irá desenvolver caras e debilitantes complicações urológicas. Infelizmente, os mecanismos envolvidos são mal compreendidos. A escassez de conhecimento tem sido uma barreira para o desenvolvimento dos melhores métodos de prevenção e tratamento das complicações urológicas” (62). No entanto, a relação do DMG com IU é pouco explorada e as consequências clínicas tornam-se preocupantes à medida que se têm discutido e comprovado na literatura as implicações negativas na vida da mulher, justificando, portanto, a investigação dos fatores de interferência do DMG sobre a IU.

Segundo estudo realizado em 2009, os modelos animais têm potencial para revelar os mecanismos e ajudar no desenvolvimento de estratégias de tratamento (63).

A pesquisa translacional poderá desvendar a influência do diabetes sobre a continência urinária, visto que o estudo da natureza da uropatia diabética em humanos é difícil. Em animais, o fácil acesso aos órgãos e tecidos afetados torna a investigação experimental um modelo valioso. A disponibilidade de modelos animais em que a caracterização fenotípica essencial da doença pode ser replicada é de extremo valor. Dieta, ambiente, manipulação genética e cirúrgica de animais permitem o isolamento de muitas influências biológicas no desenvolvimento e evolução do DM e uropatia diabética. A história natural da doença é também comprimida no

tempo de vida curta dos animais em comparação com o desenvolvimento de complicações durante décadas em seres humanos (63).

Nosso grupo de pesquisa discutiu a importância do estudo de modelos animais para testar hipóteses sobre os mecanismos de continência urinária e fisiopatologia do binômio DMG-IU. Devido à similaridade entre a distribuição normal da musculatura estriada e da neuroanatomia da uretra em mulheres e em ratas, esses modelos animais vêm sendo cada vez mais utilizados nas pesquisas sobre esses distúrbios. Portanto, o uso de ratas como modelo animal é apropriado para estudos experimentais que testam hipóteses sobre os mecanismos de continência e a fisiopatologia do binômio diabetes melito e IU, possibilitando, assim, soluções de grande valia na prática clínica (64). Vários estudos mostram que, após a indução do DM em roedores por destruição de células β -pancreáticas com STZ, a bexiga e a uretra sofrem alterações morfométricas e funcionais nos componentes miogênico e neurogênico (65-69).

Os resultados de nossos estudos translacionais assim como de outros pesquisadores mostraram que o diabetes induz alterações na capacidade e complacência, na composição do tecido e parede da bexiga, além de atrofia do músculo estriado uretral e mudanças no perfil das fibras musculares (68,70-72). Estudo translacional realizado por Marini e cols. avaliou as alterações morfológicas das fibras musculares estriadas tipos I e II da uretra de ratas prenhes diabéticas submetidas à cesárea. Os resultados mostraram que o grupo diabético prenhe apresentou adelgaçamento, atrofia, desorganização e rompimento associado à perda de localização anatômica normal das fibras rápidas e lentas e diminuição na proporção de fibras rápidas. Os autores concluíram que a associação entre diabetes e prenhez danificou o músculo estriado uretral e alterou a composição e a distribuição das fibras tipo I e II (72). A colocalização das fibras lentas e rápidas no músculo estriado uretral de ratas prenhes diabéticas, cuja descrição é inédita (72), pode explicar a alta prevalência de IU e disfunção do assoalho pélvico em mulheres com DMG. Como o músculo esquelético é o órgão-alvo principal do metabolismo de glicose, o entendimento dos mecanismos básicos envolvendo a miopatia diabética tem enorme importância para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas que melhorem a qualidade de vida das gestantes diabéticas e reduzam os custos da assistência à saúde.

Na tentativa de desenvolver modelos de intervenção para prevenção da incontinência urinária, apontada

como consequência da perda da função muscular do assoalho pélvico, nosso grupo de pesquisa realizou um estudo que avaliou a efetividade de exercícios do assoalho pélvico durante a gestação como medida preventiva da incontinência urinária e da disfunção muscular do assoalho pélvico. Os resultados mostraram que exercícios perineais realizados durante a gestação aumentaram significativamente a função muscular do assoalho pélvico e diminuíram a ocorrência de incontinência urinária (73).

Ficou claro que uma das maiores causas de IU de esforço é o mau funcionamento do músculo estriado uretral (esfíncter uretral externo) e que o diabetes leva a graves alterações nesse músculo. Ainda há controvérsia nas consequências da gestação nesse mecanismo. Nosso grupo de estudo pretende aprofundar o conhecimento nessa área e está realizando outros estudos translacionais valendo-se da análise da estrutura e ultraestrutura da matriz extracelular e do músculo estriado uretral em ratas prenhes diabéticas. Os resultados da investigação atual ajudam a elucidar os caminhos fisiopatológicos que conduzem ao desenvolvimento de distúrbios do assoalho pélvico feminino, mas há necessidade de mais pesquisa para a plena compreensão dos fenômenos que resultarão no melhor atendimento para as pacientes. A terapia específica com base científica sólida dará os resultados para a prevenção nos níveis primário e secundário do sistema de saúde (74).

PESQUISA TRANSLACIONAL EM DMG E HGL PARA ESTUDOS DE INTERVENÇÃO

Várias pesquisas translacionais estão sendo realizadas com foco na intervenção, pois o controle da glicemia é o mecanismo ideal para reduzir as repercussões do diabetes. A associação entre atividade física, dieta e insulina é o recurso terapêutico mais utilizado na clínica para controlar a concentração de glicose no sangue.

O uso terapêutico do exercício físico para o tratamento do diabetes é preconizado desde 600 a.C. Apesar da tendência atual de recomendação de atividade física também para gestantes diabéticas, não existia um consenso definido sobre seu papel na gravidez complicada por diabetes. Os dados eram insuficientes para atribuir riscos ou benefícios à mãe e ao recém-nascido (75). Esse fato seria explicado pela inclusão de gestantes com diferentes tipos de diabetes, constituição corporal, grau de resistência à insulina, fases da gestação e, em particular, devido à falta de padronização da intensidade, tipo e duração do exercício (75,76).

Estudos atuais, demonstrados em revisão de literatura por Nascimento e cols., afirmam que a prática de exercícios físicos durante a gravidez está associada com maior aptidão cardiorrespiratória, prevenção de incontinência urinária e dor lombar, redução dos sintomas de depressão, controle de ganho de peso gestacional e para casos de DMG, reduzida quantidade de mulheres que necessitaram de insulina. Não há associação com a redução de peso ao nascer ou a taxa de parto prematuro. O tipo de exercício não mostra nenhuma diferença nos resultados, e sua intensidade deve ser leve ou moderada por mulheres anteriormente sedentárias e moderada a alta para mulheres ativas. As recomendações de exercícios ainda são baseadas nas diretrizes atuais sobre intensidade moderada, de baixo impacto e exercícios aeróbicos pelo menos três vezes por semana. No entanto, as novas diretrizes propõem aumentar as despesas de atividade física semanal, incorporando o exercício vigoroso e adicionando treinamento de força leve para a rotina de exercícios de gestantes saudáveis. No caso de outras doenças crônicas, como a hipertensão, ainda existem poucos dados e, portanto, mais estudos devem ser realizados para avaliar a segurança da intervenção. Portanto, atualmente o exercício físico é considerado benéfico para as mulheres durante a gravidez e também durante o período pós-parto e não está associado a riscos para o recém-nascido e pode levar a mudanças no estilo de vida que implicam benefícios a longo prazo (77).

Além disso, o exercício juntamente com as terapias farmacológicas e dieta são importantes estratégias para controlar a glicemia e melhorar o processo de concepção. As dúvidas anteriores da literatura sobre o efeito exclusivo de exercício em gestantes diabéticas levou ao desenvolvimento de estudos experimentais para avaliar o efeito do exercício na prenhez de ratas diabéticas induzida por *streptozotocin* (34).

Estudos experimentais realizados em nosso laboratório verificaram os efeitos da prática do exercício físico (natação) iniciada em diferentes momentos na prenhez de ratas diabéticas. Não foi comprovada a influência do exercício físico sobre os níveis glicêmicos maternos, mas a prática diária de natação após a implantação embrionária (a partir do 7º dia de prenhez) mostrou-se benéfica para o perfil lipídico de ratas diabéticas (controle da dislipidemia). Esse resultado reforça a validade da associação da atividade física regular à dieta e insulina na gestação complicada pelo diabetes (78). O mesmo estudo experimental também mostrou redução do número de morte embrionária (reabsorções) e inaltera-

ção no número de fetos vivos em comparação com os números das ratas diabéticas não exercitadas, explicado pela melhoria no metabolismo lipídico, que contribuiu para a manutenção do embrião implantado no organismo materno. No entanto, com relação às malformações congênitas, foi observado aumento de anomalias esqueléticas, e os recém-nascidos apresentaram pesos corpóreos reduzidos. Isso pode ser explicado pelo fato de que o estresse intenso influencia o peso corporal materno, resultando no atraso do crescimento fetal, além de alterações vertebrais e do esterno (34). Em conclusão, o exercício físico tem relevância para a aplicação clínica como parte integral do tratamento do diabetes e deve ser encorajado, sendo necessário o seguimento médico para a prática do exercício antes e durante a gestação de mulheres diabéticas.

Além do uso do exercício físico, há grande interesse no desenvolvimento de novas drogas para prevenir complicações associadas ao diabetes; o conhecimento tradicional direciona para terapias alternativas à base de plantas medicinais para amenizar seus efeitos. Atualmente, mais de 800 tipos de plantas são utilizados no tratamento do DM (79), a maioria com amplo espectro na clínica. Há necessidade premente de se explorar o campo da fitomedicina para fornecer terapias alternativas no tratamento da síndrome diabética (80). A comunidade científica tem grande interesse em avaliar o estado do produto natural isolado em estudos experimentais, sendo que alguns deles já foram testados em seres humanos (81-84).

Assim como outros grupos de pesquisa, nosso laboratório apresenta diversos trabalhos experimentais com a utilização de animais diabéticos para comprovar os efeitos hipoglicemiantes e/ou antioxidantes de algumas dessas plantas (85). Foi demonstrado que o extrato aquoso de *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca) reduziu a frequência de anomalias congênitas na prole de ratas diabéticas e foi sugerido que esse efeito poderia ser devido à ativação no sistema de glutatona, um antioxidante (86). Foi testado também o extrato das folhas de *Morus nigra* (amora negra), que não controlou a hiperglicemia das ratas diabéticas, mas também reduziu a frequência de anomalias esqueléticas e viscerais nos fetos de ratas diabéticas pelo seu efeito antioxidante (87,88).

Os efeitos das plantas medicinais e outros recursos coadjuvantes podem afetar a capacidade antioxidante durante o curso do diabetes experimental na prenhez e serve como abordagem para elaboração de medidas terapêuticas de baixo custo para a gestão dos diversos e

variados distúrbios de desenvolvimento embriofetal do diabetes clínico (87).

CONCLUSÕES

O DMG é uma condição que pode ser efetivamente controlada, diminuindo os riscos associados, e levar ao nascimento de crianças saudáveis. É importante que essas mães sejam diagnosticadas durante a gravidez e que tenham acompanhamento pós-parto regular para a identificação e tratamento de eventuais complicações.

Embora os desafios para a pesquisa translacional eficaz sejam consideráveis, as oportunidades são grandes. Precisamos assegurar que, em décadas futuras, uma falha em desenvolver terapias para as principais complicações da gravidez não seja responsável por graves repercussões para a mãe e para seu conceito.

Espera-se que a pesquisa translacional no binômio diabetes-gravidez seja implementada em centros de excelência tanto de pesquisa básica como aplicada e complementada por estudos clínicos multicêntricos, conduzidos de forma pragmática para aumentar o nível de evidência científica com recursos diagnósticos e terapêuticos mais confiáveis. Para tal, é necessário pensar nos objetivos que devem ser atingidos nos próximos anos, de forma a construir um ambiente de pesquisa sólido, forte e adequado ao momento e às oportunidades que nosso país vêm vivendo. É necessário cuidar dos recursos humanos, nossos verdadeiros talentos, de forma responsável e planejada, dando a eles incentivos para continuar investindo em nosso país e em nosso futuro. Transformar o país e seus profissionais de coadjuvantes em protagonistas (89).

Essas lições devem ser aproveitadas para intensificar os estudos e as intervenções, criar uma dinâmica e atingir os esforços sustentáveis na prevenção do diabetes e suas complicações durante a gestação.

Agradecimentos: este estudo teve suporte financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) (2010/13303-3) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (473673/2011-8).

Declaração: os autores declaram não haver conflitos de interesse científico neste estudo.

REFERÊNCIAS

- Rudge MV, Girão MJBC, Experimental GADeG-Ce, Grupo Acadêmico Aspectos Clínicos Moleculares e Gênicos da Incontinência Urinária Feminina. *Diabete gestacional e incontinência urinária:*

interação entre a Ginecologia e a Obstetrícia. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2011;33(5):207-10.

- Gokyildiz S, Beji NK. The effects of pregnancy on sexual life. *J Sex Marital Ther.* 2005;31(3):201-15.
- Biri A, Korucuoglu U, Ozcan P, Aksakal N, Turan O, Himmetoglu O. Effect of different degrees of glucose intolerance on maternal and perinatal outcomes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009;22(6):473-8.
- Vivet-Lefebure A, Roman H, Robillard PY, Laffitte A, Hulseley TC, Camp G, et al. [Obstetrical and neonatal outcomes of gestational diabetes mellitus at Reunion Island (France)]. *Gynecol Obstet Fertil.* 2007;35(6):530-5.
- Lee H, Jang HC, Park HK, Metzger BE, Cho NH. Prevalence of type 2 diabetes among women with a previous history of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008;81(1):124-9.
- Li G, Zhang P, Wang J, Gregg EW, Yang W, Gong Q, et al. The long-term effect of lifestyle interventions to prevent diabetes in the China Da Qing Diabetes Prevention Study: a 20-year follow-up study. *Lancet.* 2008;371(9626):1783-9.
- Simmons RK, Unwin N, Griffin SJ. International Diabetes Federation: an update of the evidence concerning the prevention of type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;87(2):143-9.
- Kiss AC, Lima PH, Sinzato YK, Takaku M, Takeno MA, Rudge MV, et al. Animal models for clinical and gestational diabetes: maternal and fetal outcomes. *Diabetol Metab Syndr.* 2009;1(1):21.
- Forsbach-Sanchez G, Tamez-Perez HE, Vazquez-Lara J. Diabetes and pregnancy. *Arch Med Res.* 2005;36(3):291-9.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2012;35 Suppl 1:S64-71.
- Gabbe SG, Graves CR. Management of diabetes mellitus complicating pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2003;102(4):857-68.
- Bener A, Saleh NM, Al-Hamaq A. Prevalence of gestational diabetes and associated maternal and neonatal complications in a fast-developing community: global comparisons. *Int J Womens Health.* 2011;3:367-73.
- Bakken S, Jones D. Contributions to translational research for quality health outcomes. *Nursing Research.* 2006;55(2):S1-2.
- Sung NS, Crowley WF Jr, Genel M, Salber P, Sandy L, Sherwood LM, et al. Central challenges facing the national clinical research enterprise. *JAMA.* 2003;289(10):1278-87.
- Narayan KM, Gregg EW, Engelgau MM, Moore B, Thompson TJ, Williamson DF, et al. Translation research for chronic disease: the case of diabetes. *Diabetes Care.* 2000;23(12):1794-8.
- Hobin JA, Deschamps AM, Bockman R, Cohen S, Dechow P, Eng C, et al. Engaging basic scientists in translational research: identifying opportunities, overcoming obstacles. *J Trans Med.* 2012;10(1):72.
- Siminerio L, Mbanya JC. Translating diabetes research into global communities. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011;93(3):443-5.
- Garfield SA, Malozowski S, Chin MH, Narayan KM, Glasgow RE, Green LW, et al. Considerations for diabetes translational research in real-world settings. *Diabetes Care.* 2003;26(9):2670-4.
- Garcia de Quevedo I, Siminerio L, L'Heveder R, Narayan KM. Challenges in real-life diabetes translation research: early lessons from BRIDGES projects. *Diabetes Res Clin Pract.* 2012;95(3):317-25.
- Castro I, Miranda C, Rodrigues A, Silva M. Dificuldades na incorporação dos resultados de pesquisa na prática da enfermagem. In: *Anais do 4º Seminário Nacional de Pesquisa em Enfermagem;* São Paulo, Brasil São Paulo: ABEn; 1985 p. 193-242.
- Fontanarosa PB, DeAngelis CD. Basic science and translational research in JAMA. *JAMA.* 2002;287(13):1728.
- Woods NF, Magyary DL. Translational research: why nursing's interdisciplinary collaboration is essential. *Res Theory Nurs Pract.* 2010;24(1):9-24.

23. Grady PA. Translational research and nursing science. *Nursing Outlook*. 2010;58(3):164-6.
24. Pearson A, Jordan Z, Munn Z. Translational science and evidence-based healthcare: a clarification and reconceptualization of how knowledge is generated and used in healthcare. *Nurs Res Pract*. 2012;2012:792519.
25. Elias FTS. Revisões sistemáticas da literatura e o potencial ganho em eficiência no Sistema Único de Saúde: Universidade Federal de São Paulo; 2012.
26. Ferrara A. Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus: a public health perspective. *Diabetes Care*. 2007;30 Suppl 2:S141-6.
27. Barbosa AM, Dias A, Marini G, Calderon IM, Witkin S, Rudge MV. Urinary incontinence and vaginal squeeze pressure two years post-cesarean delivery in primiparous women with previous gestational diabetes mellitus. *Clinics*. 2011;66(8):1341-6.
28. Rudge MV, Gomes CM, Calderon Ide M, Ramos MD, Abbade JF, de Oliveira MG, et al. Study of the evolution of the placenta and fetal pancreas in the pathophysiology of growth retardation intrauterine due to restricted maternal diet. *Sao Paulo Med J*. 1999;117(2):49-56.
29. Rudge MV, Calderon Ide M, Ramos MD, Brasil MAM, Rugolo LMSS, Bossolan G, et al. Hiperglicemia materna diária diagnosticada pelo perfil glicêmico: um problema de saúde pública materno e perinatal. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2005;27(11):691-7.
30. Lopez-Soldado I, Herrera E. Different diabetogenic response to moderate doses of streptozotocin in pregnant rats, and its long-term consequences in the offspring. *Exp Diabetes Res*. 2003;4(2):107-18.
31. Calderon IMP, Rudge MVC, Brasil MAM, Henry MACA. Diabete e gravidez experimental em ratas: 1. Indução do diabete, obtenção e evolução da prenhez. *Acta Cir Bras*. 1992;7(4):142-6.
32. Soulimane-Mokhtari NA, Guermouche B, Yessoufou A, Saker M, Moutairou K, Hichami A, et al. Modulation of lipid metabolism by n-3 polyunsaturated fatty acids in gestational diabetic rats and their macrosomic offspring. *Clin Sci*. 2005;109(3):287-95.
33. Yang J, Cummings EA, O'Connell C, Jangaard K. Fetal and neonatal outcomes of diabetic pregnancies. *Obstet Gynecol*. 2006;108(3 Pt 1):644-50.
34. Volpato GT, Damasceno DC, Kempinas WG, Rudge MV, Calderon IM. Effect of exercise on the reproductive outcome and fetal development of diabetic rats. *Reprod Biomed Online*. 2009;19(6):852-8.
35. Aerts L, Van Assche FA. Animal evidence for the transgenerational development of diabetes mellitus. *Int J Biochem Cell Biol*. 2006;38(5-6):894-903.
36. Calderon IM, Damasceno DC, Amorin RL, Costa RA, Brasil MA, Rudge MV. Morphometric study of placental villi and vessels in women with mild hyperglycemia or gestational or overt diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2007;78(1):65-71.
37. Iessi IL, Bueno A, Sinzato YK, Taylor KN, Rudge MV, Damasceno DC. Evaluation of neonatally-induced mild diabetes in rats: maternal and fetal repercussions. *Diabetol Metab Syndr*. 2010;2(1):37.
38. Saito FH, Damasceno DC, Kempinas WG, Morceli G, Sinzato YK, Taylor KN, et al. Repercussions of mild diabetes on pregnancy in Wistar rats and on the fetal development. *Diabetol Metab*. 2010;2(1):26.
39. Sinzato YK, Damasceno DC, Laufer-Amorim R, Rodrigues MM, Oshiiwa M, Taylor KN, et al. Plasma concentrations and placental immunostaining of interleukin-10 and tumor necrosis factor-alpha as predictors of alterations in the embryo-fetal organism and the placental development of diabetic rats. *Braz J Med Biol Res*. 2011;44(3):206-11.
40. Khan NA, Yessoufou A, Kim M, Hichami A. N-3 fatty acids modulate Th1 and Th2 dichotomy in diabetic pregnancy and macrosomia. *J Autoimmun*. 2006;26(4):268-77.
41. Yessoufou A, Soulimann N, Merzouk SA, Moutairou K, Ahissou H, Prost J, et al. N-3 fatty acids modulate antioxidant status in diabetic rats and their macrosomic offspring. *Int J Obes*. 2006;30(5):739-50.
42. Fry CH, Daneshgari F, Thor K, Drake M, Eccles R, Kanai AJ, et al. Animal models and their use in understanding lower urinary tract dysfunction. *NeuroUrol Urodyn*. 2010;29(4):603-8.
43. De Luca AK, Nakazawa CY, Azevedo BC, Rudge MV, De Araujo Costa RA, Calderon IM. Influence of glycemic control on fetal lung maturity in gestations affected by diabetes or mild hyperglycemia. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2009;88(9):1036-40.
44. Sá ACJ. Effects of maternal diabetes on lung phospholipid profile of the offspring of diabetic rats. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2001;76(167):71.
45. Yessoufou A, Moutairou K. Maternal diabetes in pregnancy: early and long-term outcomes on the offspring and the concept of "metabolic memory". *Exp Diabetes Res*. 2011;2011:218598.
46. Atebo JM, Grissa O, Yessoufou A, Hichami A, Dramane KL, Moutairou K, et al. Modulation of adipokines and cytokines in gestational diabetes and macrosomia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(10):4137-43.
47. Grissa O, Atebo JM, Yessoufou A, Tabka Z, Miled A, Jerbi M, et al. Antioxidant status and circulating lipids are altered in human gestational diabetes and macrosomia. *Transl Res*. 2007;150(3):164-71.
48. Dincer Y, Alademir Z, Ilkova H, Akcay T. Susceptibility of glutathione and glutathione-related antioxidant activity to hydrogen peroxide in patients with type 2 diabetes: effect of glycemic control. *Clin Biochem*. 2002;35(4):297-301.
49. McLennan SV, Heffernan S, Wright L, Rae C, Fisher E, Yue DK, et al. Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes. *Diabetes*. 1991;40(3):344-8.
50. Dallaqua B, Saito FH, Rodrigues T, Calderon IM, Rudge MV, Herrera E, et al. Treatment with Azadirachta indica in diabetic pregnant rats: negative effects on maternal outcome. *J Ethnopharmacol*. 2012;143(3):805-11.
51. Damasceno DC, Kiss AC, Sinzato YK, de Campos KE, Rudge MV, Calderon IM, et al. Maternal-fetal outcome, lipid profile and oxidative stress of diabetic rats neonatally exposed to streptozotocin. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2011;119(7):408-13.
52. Sinzato YK, Lima PH, Campos KE, Kiss AC, Rudge MV, Damasceno DC. Neonatally-induced diabetes: lipid profile outcomes and oxidative stress status in adult rats. *Rev Assoc Med Bras*. 2009;55(4):384-8.
53. Daneshgari F, Moore C. Diabetic uropathy. *Semin Nephrol*. 2006;26(2):182-5.
54. Goins WF, Yoshimura N, Phelan MW, Yokoyama T, Fraser MO, Ozawa H, et al. Herpes simplex virus mediated nerve growth factor expression in bladder and afferent neurons: potential treatment for diabetic bladder dysfunction. *J Urol*. 2001;165(5):1748-54.
55. Marini G, Piculo F, Barbosa AMP, Damasceno D, Calderon IM, Matheus SMM, et al. Diabetes na gestação e incontinência urinária: uma associação pouco reconhecida. *Fisioterapia Brasil*. 2012;13(1):65-8.
56. Martins G, Soler ZA, Cordeiro JA, Amaro JL, Moore KN. Prevalence and risk factors for urinary incontinence in healthy pregnant Brazilian women. *Int Urogynecol J*. 2010;21(10):1271-7.
57. Brown JS, Vittinghoff E, Lin F, Nyberg LM, Kusek JW, Kanaya AM. Prevalence and risk factors for urinary incontinence in women with type 2 diabetes and impaired fasting glucose: findings from

- the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001-2002. *Diabetes Care*. 2006;29(6):1307-12.
58. Sun Z, Liu L, Liu N, Liu Y. Muscular response and adaptation to diabetes mellitus. *Front Biosci*. 2008;13:4765-94.
 59. Ramchurn N, Mashamba C, Leitch E, Arutchelvam V, Narayanan K, Weaver J, et al. Upper limb musculoskeletal abnormalities and poor metabolic control in diabetes. *Eur J Intern Med*. 2009;20(7):718-21.
 60. Sayer AA, Dennison EM, Syddall HE, Gilbody HJ, Phillips DI, Cooper C. Type 2 diabetes, muscle strength, and impaired physical function: the tip of the iceberg? *Diabetes Care*. 2005;28(10):2541-2.
 61. Kim C, McEwen LN, Sarma AV, Piette JD, Herman WH. Stress urinary incontinence in women with a history of gestational diabetes mellitus. *J Womens Health*. 2008;17(5):783-92.
 62. Urologic Complications of Diabetes Mellitus. Bethesda: National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bladder Research Progress Review Group; 2002. p. 133.
 63. Daneshgari F, Leiter EH, Liu G, Reeder J. Animal models of diabetic uropathy. *J Urol*. 2009;182(6 Suppl):S8-13.
 64. Marini G, Piculo F, Barbosa AMP, Damasceno D, Matheus SMM, Rudge MVC. Importância do modelo animal para testar hipóteses sobre a fisiopatologia do binômio diabetes e incontinência urinária feminina. *Sci Med*. 2011;21(4):191-5.
 65. Christ GJ, Hsieh Y, Zhao W, Schenk G, Venkateswarlu K, Wang HZ, et al. Effects of streptozotocin-induced diabetes on bladder and erectile (dys)function in the same rat in vivo. *BJU Int*. 2006;97(5):1076-82.
 66. Daneshgari F, Huang X, Liu G, Bena J, Saffore L, Powell CT. Temporal differences in bladder dysfunction caused by diabetes, diuresis, and treated diabetes in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2006;290(6):R1728-35.
 67. Daneshgari F, Liu G, Imrey PB. Time dependent changes in diabetic cystopathy in rats include compensated and decompensated bladder function. *J Urol*. 2006;176(1):380-6.
 68. Liu G, Lin YH, Yamada Y, Daneshgari F. External urethral sphincter activity in diabetic rats. *Neurourol Urodyn*. 2008;27(5):429-34.
 69. Daneshgari F, Liu G, Birder L, Hanna-Mitchell AT, Chacko S. Diabetic bladder dysfunction: current translational knowledge. *J Urol*. 2009;182(6 Suppl):S18-26.
 70. Kim JH, Huang X, Liu G, Moore C, Bena J, Damaser MS, et al. Diabetes slows the recovery from urinary incontinence due to simulated childbirth in female rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007;293(2):R950-5.
 71. Liu G, Daneshgari F. Temporal diabetes- and diuresis-induced remodeling of the urinary bladder in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2006;291(3):R837-43.
 72. Marini G, Barbosa AM, Damasceno D, Matheus SMM, Castro RA, Girão MJBC, et al. Morphological changes in the fast vs slow fiber profiles of the urethras of diabetic pregnant rats. *Urogynaecologia*. 2011; 25:e9:31-6.
 73. Assis LCd. Efetividade de exercícios do assoalho pélvico durante a gestação como medida preventiva da incontinência urinária e da disfunção muscular do assoalho pélvico: Universidade Estadual Paulista; 2010.
 74. Weber AM, Buchsbaum GM, Chen B, Clark AL, Damaser MS, Daneshgari F, et al. Basic science and translational research in female pelvic floor disorders: proceedings of an NIH-sponsored meeting. *Neurourol Urodyn*. 2004;23(4):288-301.
 75. Kramer MS, McDonald SW. Aerobic exercise for women during pregnancy. *Cochrane database of systematic reviews*. 2006 (3):CD000180.
 76. Arena B, Maffulli N. Exercise in pregnancy: how safe is it? *Sports Med Arthrosc Review*. 2002;10:15-22.
 77. Nascimento SL, Surita FG, Cecatti JG. Physical exercise during pregnancy: a systematic review. *Curr Opin Obst Gynecol*. 2012;24(6):387-94.
 78. Volpato G, Damasceno D, Campos K, Rocha R, Rudge M, Calderon I. Avaliação do efeito do exercício físico no metabolismo de ratas diabéticas prenhes. *Rev Bras Med Esporte*. 2006;12(5):229-33.
 79. Saxena A, Vikram NK. Role of selected Indian plants in management of type 2 diabetes: a review. *J Altern Complement Med*. 2004;10(2):369-78.
 80. Sabu MC, Kuttan R. Antidiabetic activity of *Aegle marmelos* and its relationship with its antioxidant properties. *Indian J Physiol Pharmacol*. 2004;48(1):81-8.
 81. Vuksan V, Sievenpiper JL. Herbal remedies in the management of diabetes: lessons learned from the study of ginseng. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD*. 2005;15(3):149-60.
 82. Johnson L, Strich H, Taylor A, Timmermann B, Malone D, Teufel-Shone N, et al. Use of herbal remedies by diabetic Hispanic women in the southwestern United States. *Phytotherapy research: PTR*. 2006;20(4):250-5.
 83. Jung M, Park M, Lee HC, Kang YH, Kang ES, Kim SK. Antidiabetic agents from medicinal plants. *Curr Med Chem*. 2006;13(10):1203-18.
 84. Matsui T, Ogunwande IA, Abesundara KJ, Matsumoto K. Anti-hyperglycemic potential of natural products. *Mini Rev Med Chem*. 2006;6(3):349-56.
 85. Dallaqua B, Damasceno DC. Comprovação do efeito antioxidante de plantas medicinais utilizadas no tratamento do diabetes mellitus em animais: artigo de atualização. *Rev Bras PI Med*. 2011;13(3):367-37.
 86. Volpato GT, Damasceno DC, Rudge MV, Padovani CR, Calderon IM. Effect of *Bauhinia forficata* aqueous extract on the maternal-fetal outcome and oxidative stress biomarkers of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 2008;116(1):131-7.
 87. Volpato GT, Calderon IM, Sinzato S, Campos KE, Rudge MV, Damasceno DC. Effect of *Morus nigra* aqueous extract treatment on the maternal-fetal outcome, oxidative stress status and lipid profile of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 2011;138(3):691-6.
 88. Volpato GT, Damasceno DC, Sinzato S, Cervelin V, Nicolielo H, Serti M, et al. Avaliação do efeito do extrato aquoso das folhas de *Morus nigra* (Amora) no binômio diabete e gravidez. *Diabetes Clínic*. 2005;5:340-5.
 89. Dainesi SM, Goldbaum M. Pesquisa clínica como estratégia de desenvolvimento em saúde. *Rev Assoc Med Bras*. 2012;58(1):2-6.