

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CARDIOLOGIA**

**Estudo da Hipertrofia Cardíaca no Recém-Nascido
Macrossômico, Filho de Mãe Diabética e sua Relação
com os Níveis Séricos dos Fatores de Crescimento
Semelhantes à Insulina**

PATRÍCIA MARTINS MOURA BARRIOS

Patricia Martins Moura Barrios
Dezembro, 1997

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CARDIOLOGIA

**Estudo da Hipertrofia Cardíaca no Recém-Nascido
Macrossômico, Filho de Mãe Diabética e sua Relação
com os Níveis Séricos dos Fatores de Crescimento
Semelhantes à Insulina**

PATRÍCIA MARTINS MOURA BARRIOS

Orientador: Paulo Zielinsky

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina, área de concentração em Cardiologia, para obtenção do título de Doutor.

Dezembro, 1997

AGRADECIMENTOS

Em uma época em que novas informações surgem a cada segundo, temos que ser conscientes da necessidade da contribuição de várias pessoas para que o fruto de nosso trabalho possa contribuir com uma porção ínfima para o mar do conhecimento vigente. Se por um lado esta realidade é meio assustadora, por nos tornar conscientes da pequenez da nossa individualidade, por outro, ela torna a união dos homens um processo irreversível. Para o todo, o indivíduo é muito importante e esta perspectiva é alentadora.

Este trabalho não poderia ser diferente. Tive a sorte de poder contar com pessoas maravilhosas que contribuíram para este estudo pela única e simples razão da solidariedade ou do amor à ciência.

Ao Dr. Zielinsky, meu orientador, cujo entusiasmo pela pesquisa e a disponibilidade em meio a uma agenda tumultuada, muito me ajudaram. Foi uma honra tê-lo como orientador.

Ao Dr. Jorge Pinto Ribeiro, meu amigo de muitos anos, e a quem muito admiro profissionalmente, pela impulsão inicial, pela perseverança na manutenção do estímulo e pelo apoio final.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Francisco Lhullier, chefe da Unidade de Radioimunoensaio do HCPA, pela dedicação e entusiasmo com que, idealisticamente realizou várias horas extra de trabalho nas dosagens dos Fatores de crescimento e suas proteínas ligadoras.

Ao grupo de enfermagem da Neonatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo extremo empenho, rapidez e boa vontade com que me localizavam, em meio a uma rotina apertada de trabalho, quando nascia um RN com critérios para entrar no estudo. Também pelo cafezinho e pelo delicioso "papo", que conseguiram tornar agradáveis meus abruptos deslocamentos até o hospital. A unidade Neonatal do HCPA é realmente privilegiada no seu grupo de enfermeiras! São elas: Enf. Clarisse Maria Bauer Zambrano, minha grande amiga, Enf. Neida Pacheco Solla, Alice Maria Paulo Araujo, Enf. Marion Kollman, Enf. Eliane Norma Mendes, Maria Luzia Cunha.

Ao grupo de médicos contratados do berçário do Hospital Nossa Senhora Conceição, pela disposição e a boa vontade de acrescentar ao seu trabalho já árduo a tarefa de me localizar quando nasciam RNs para o meu estudo.

À Dra. Denise Neves Pereira, na época uma excelente residente do HCPA, por nunca achar que me auxiliar fosse adicionar uma carga de trabalho difícil de suportar em meio às suas obrigações de R3.

Ao meu querido amigo Dr. Paulo Picon, pela grande ajuda na realização dos diapositivos.

AGRADECIMENTOS

Aos funcionários do laboratório de análises clínicas do Hospital Nossa Senhora Conceição pela centrifugação e separação das amostras lá coletadas.

Ao Dr. Waldomiro Carlos Manfroi, pelas palavras certas no momento certo.

Ao meu marido Carlos Barrios, por ser a pessoa mais completa que eu conheço e por demonstrar que acredita sempre na minha capacidade de ir além.

Aos meus filhos Pablo e Diego, pela solidariedade e surpreendente compreensão com que apoiaram as minhas horas de estudo e pelo estímulo constante através de comentários "preciosos" tais como: "Quanto falta mãe? A gente sabe que tu vai terminar logo..." e "Prá que mesmo esta tal de tese é importante? Ah, bom....; é muito importante..." "Mãe, jogador de futebol escreve tese? Não? Vou ser jogador de futebol".

Aos meus pais finalmente, pela infância e adolescência maravilhosas que me proporcionaram, pelo apoio incondicional na vida adulta e por me ensinarem, com o seu exemplo, a saber amar e ser feliz.

SUMÁRIO

	p.
RESUMO	
ABSTRACT	
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	7
2.1 Hipertrofia Cardíaca em Filhos de Mães Diabéticas	7
2.1.1 Achados clínicos e tratamento	10
2.1.2 Achados ecocardiográficos	11
2.1.3 Achados patológicos e histológicos	16
2.1.4 História natural e diagnóstico diferencial	17
2.1.5 Etiologia	18
2.2 Fatores de Crescimento Semelhante à Insulina	24
2.2.1 Fator de crescimento semelhante à insulina tipo-I.....	27
2.2.2 Fator de crescimento semelhante à insulina tipo-II.....	32
2.2.3 Proteína ligadora dos fatores de crescimento semelhantes à insulina tipo-I	35

2.2.4 Proteína ligadora dos fatores de crescimento semelhantes à insulina tipo-3	39
3 HIPÓTESES	42
3.1 Hipóteses Operacionais.....	42
4 OBJETIVOS	43
4.1 Objetivos Gerais	43
4.2 Objetivos Específicos.....	43
5 MATERIAL E MÉTODOS	45
5.1 Delineamento.....	45
5.2 Amostra.....	45
5.2.1 Critérios de inclusão	46
5.3 Procedimentos	46
5.4 Análises Laboratoriais	48
5.5 Ecocardiografia	56
5.6 Análise Estatística.....	57
5.7 Aspectos Éticos	58
6 RESULTADOS	60
6.1 Características Gerais da Amostra	60
6.2 Achados Ecocardiográficos.....	62
6.3 Achados da Análise Sangüínea	66
6.4 Relações Entre Hipertrofia Septal e as Diferentes Variáveis	68
7 DISCUSSÃO	75
7.1 Fatores de Crescimento Semelhantes à Insulina.....	75
7.2 Macrossomia e Hipertrofia Cardíaca.....	88

SUMÁRIO

7.3 Achados Ecocardiográficos.....	90
7.4 Limitações do Estudo.....	95
7.5 Aplicações Futuras	95
8 CONCLUSÕES.....	97
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98
ANEXO	138

RESUMO

A hipertrofia cardíaca é comumente observada em recém-nascidos de mães diabéticas (RNMD), podendo levar a um quadro de insuficiência cardíaca nas primeiras horas de vida (57, 81, 16, 127, 163, 180, 181). Esta hipertrofia pode acometer todas as paredes cardíacas, mas localiza-se preferencialmente no septo interventricular e no ventrículo esquerdo (52, 81, 87, 128, 140, 180, 181). Vários autores observaram padrões ecocardiográficos de disfunção diastólica e hipercontratibilidade miocárdica nestes recém-nascidos (52, 128, 136, 185). A causa deste crescimento cardíaco exagerado permanece obscura, já que não há um aumento da pós-carga, que justifique uma resposta adaptativa hipertrófica do miocárdio. A hipótese atualmente aceita é a de que o estímulo desencadeante desta hipertrofia miocárdica seja metabólico.

Os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs) são peptídeos mitogênicos capazes de sintetizar proteínas em vários tecidos, através de um mecanismo autócrino ou parácrino (4, 8, 10, 16, 20, 22, 27, 30, 32, 38, 44, 54, 56, 61, 70, 97, 106, 134, 177, 178, 179, 219). O RNA mensageiro de IGF-I (RNAmIGF-I) é produzido em uma variedade de tecidos, incluindo o miocárdio e os músculos esqueléticos. Embora existam vários estudos demonstrando a participação dos IGFs na hipertrofia cardíaca provocada por um aumento da

RESUMO

pós-carga em animais de laboratório, não existem trabalhos demonstrando a participação dos IGFs na hipertrofia cardíaca em RNMD, "in vivo".

Os objetivos do presente estudo foram, verificar se havia associação entre os níveis plasmáticos dos IGFs e suas proteínas ligadoras (IGFBP) e hipertrofia cardíaca nos RNMD e se esta hipertrofia estava associada à macrossomia neonatal, refletindo uma resposta generalizada a um aumento de substrato metabólico.

Exame físico, antropometria e coleta sanguínea foram realizados em 140 RNs nas primeiras três horas de vida. Destes, 111 (79%) foram examinados por ecocardiografia uni e bidimensional com Doppler e mapeamento de fluxo a cores. Dosagens dos IGFs, IGFBPs foram obtidas em 90 (64%) dos RN e dosagens de glicose em todos os pacientes.

Dos 111 RN estudados, 61 (55%) eram adequados para a idade gestacional (AIG), 40 (36%) eram grandes para a idade gestacional e 10 (9%) pequenos para a idade gestacional (PIG). Diabetes estava presente em 44 (39%) das mães durante o pré-natal. O nível médio de IGF-1 foi 24,5 (\pm 15,4)ng/ml nos AIG, 42,59 (\pm 21,5)ng/ml nos GIG e 8,2 (\pm 4,02)ng/ml nos PIG ($p < 0,001$). O nível médio de IGFBP-1 não foi diferente nos três grupos. O nível médio de IGFBP-3 foi 641,88 (\pm 155,9)ng/ml nos AIG, 754,34 (\pm 207,35)ng/ml nos GIG e 399,1(\pm 202,49)ng/ml nos PIG ($p < 0,001$).

Hipertrofia do septo interventricular (HSIV) foi encontrada em 18 RN (16%) do total da amostra. Destes, 16 (89%) eram RNMD. Sete (39%) dos pacientes com hipertrofia septal eram AIG e 11 (61%) eram GIG. A média de peso dos RN sem HSIV foi 3,29 (\pm 0,64) kg e dos RN com HSIV foi 4,07

RESUMO

($\pm 0,67$) kg ($p < 0,001$). As médias da razão E:A mitral e da razão E:A tricúspide não foram diferentes nos três grupos assim como não foram diferentes entre os RN com e sem hipertrofia septal. O tempos médios de desaceleração mitral e tricúspide também não foram diferentes nos três grupos assim como não foram diferentes entre os RN com e sem hipertrofia septal.

Os níveis médios de IGF-I nos RN sem HSIV foi 25,97 ($\pm 18,17$) ng/ml e dos RN com HSIV foi 48,26 ($\pm 21,89$)ng/ml ($p < 0,001$). O coeficiente de correlação entre IGF-I e diâmetro septal (DS) foi de 0,57 ($p < 0,01$) e entre o peso de nascimento e o DS foi de 0,48 ($p < 0,01$). O coeficiente de correlação entre IGF-I e o peso de nascimento foi 0,55 ($p < 0,001$), entre IGF-I e IGFBP-1 foi $-0,40$ ($p < 0,001$) e entre IGF-I e IGFBP-3 foi 0,57 ($p < 0,001$). Na análise das variáveis por regressão linear múltipla, apenas IGF-I e a presença de diabetes materna contribuíram significativamente para a hipertrofia do septo interventricular.

Os resultados encontrados permitem concluir que os níveis de IGF-I e a presença de diabetes durante a gestação estão diretamente relacionados à espessura do septo interventricular, que os níveis de IGF-I estão diretamente relacionados com o peso de nascimento e que o peso de nascimento não tem influência significativa na espessura do septo interventricular. Os resultados também nos permitem concluir que não há diferença nos índices ecocardiográficos de função diastólica em RN com e sem hipertrofia septal transitória, na primeira semana de vida.

ABSTRACT

Cardiac hypertrophy is a frequent finding in newborns of diabetic mothers (NBDM) and can lead to congestive heart failure in the first few hours of life (57, 81, 16, 127, 163, 180, 181). This hypertrophy preferentially involves the interventricular septum and the left ventricle but it can be found in the entire myocardium (52, 81, 87, 128, 140, 180, 181). Different observations have identified echocardiographic patterns of diastolic dysfunction and myocardial hypercontractility in these newborns (52, 128, 136, 185). The reason for this hypertrophy remains unclear as there is no increased afterload to justify and adaptive hypertrophic myocardial response. The current hypothesis points towards a metabolic stimulus as responsible for this myocardial hypertrophy.

Insulin Growth Factors (IGFs) are mitogenic peptides that through autocrine or paracrine mechanisms are able to induce protein synthesis in different tissues (4, 8, 10, 16, 20, 22, 27, 30, 32, 38, 44, 54, 56, 61, 70, 97, 106, 134, 177, 178, 179, 219). Messenger RNA for IGF-I (RNAm IGF-I) has been identified in a variety of tissues including myocardium and eskeletal muscle. Although there is evidence demonstrating a role for IGFs in the cardiac hypertrophy caused by an increased afterload in laboratory animals, there is no work addressing the role of IGFs in the cardiac hypertrophy of NBDM "in vivo".

ABSTRACT

The objective of this work is to identify a possible correlation between plasma levels of IGFs, their binding proteins (IGFBP) and the cardiac hypertrophy in newborns of diabetic mothers. Furthermore, we attempt to relate this hypertrophy to neonatal macrosomia, possibly reflecting a generalized response to an increase in a metabolic substrate.

Physical Exam, anthropometry and blood sampling were performed in 140 newborns in the first three hours of life. Of these, 111 (79%) were examined with uni and bi dimensional echocardiography with Color Doppler. Plasma levels of IGFs and IGFBPs were obtained in 90 (64%) of the newborns and glucose levels in all of them.

Of the 111 RN studied, 61 (55%) were appropriate for gestational age (AGA), 40 (36%) were large for gestational age (LGA) and 10 (9%) were small for gestational age (SGA). In 44 (39%) of the mothers gestational diabetes had been documented during pre-natal care. The median IGF-I level was 24,5 (\pm 15,4) ng/ml in the AGA, 42,59 (\pm 21,5) in the LGA and 8,2 (\pm 4,02) in the SGA ($p < 0,001$). The median level of IGFBP-I was 224,73 (\pm 98,08) ng/ml in the AGA, 168,89 (\pm 93,89) in the LGA and 256 (\pm 61,67) in the SGA ($p = 0,008$). The median level of IGFBP-3 was 641,88 (\pm 155,9) in the AGA, 754,34 (\pm 207,35) in the LGA and 399,10 (\pm 202,49) in the SGA group ($p < 0,001$).

Septal hypertrophy was found in 18 (16%) newborns. Of these, 16 (89%) were NBDM. Seven (39%) of the patients with septal hypertrophy were AGA and 11 (61%) were LGA. The median weight of the newborns without interventricular septal hypertrophy was 3,29 (\pm 0,64) kg, while the median weight of those with septal hypertrophy was 4,07 (\pm 0,67) kg ($p < 0,001$). The

ABSTRACT

median of the mitral and tricuspid E:A ratios were not different in the three groups of patients. There was no difference also in the E:A ratios in the newborns with or without septal hypertrophy. The median mitral and tricuspid deceleration times were not different in the three groups. Also, there was no difference in the DT in the newborns with or without septal hypertrophy.

The median levels of IGF-I in newborns without septal hypertrophy was 25,97 (\pm 18,17) ng/ml while it was 48,26 (\pm 21,89) ng/ml in those with hypertrophy ($p < 0,001$). The correlation coefficient between IGF-I and the septal diameter was 0,57 ($p < 0,01$) and between birth weight and septal diameter it was 0,48 ($p < 0,01$). The correlation coefficient between IGF-I and birth weight was 0,55 ($p < 0,001$), between IGF-I and IGFBP-I was 0,40 ($p < 0,001$) and between IGF-I and IGFBP-3 was 0,57 ($p < 0,001$). In the multiple regression analysis, only IGF-I and maternal diabetes contributed significantly for interventricular septal hypertrophy.

Our results indicate that IGF-I levels and gestational diabetes are directly related to septal thickness at birth. Furthermore, IGF-I levels are directly related to birth weight and birth weight has no significant relation to septal thickness. We also found no difference in the echocardiographic ratios of diastolic function in newborns with or without transient septal hypertrophy in the first week of life.

1 INTRODUÇÃO

A diabetes gestacional (DG), tem uma prevalência estimada entre 1% a 5% na população (25, 41, 43, 116) e é definida como uma tolerância diminuída de grau variável aos carboidratos, com início ou diagnóstico durante a gestação (25, 56). A prevalência de gestantes com diabetes prévia tem sido estimada em 0,2% a 0,3%. As conseqüências fetais, da diabetes na gravidez, são conhecidas há muitos anos. Em 1882, J. Matthews Duncan, um obstetra britânico, notou que a gestação complicada por diabetes era geralmente interrompida pela morte fetal e que o feto morto era muitas vezes enorme (58). Esta observação foi confirmada aproximadamente 46 anos após por Priscilla White, que sugeriu que talvez a hiperglicemia materna levasse a um crescimento fetal excessivo ao chamar a atenção para o fato de que o tamanho do recém-nascido (RN) era um sinal de desequilíbrio e de que o conteúdo alto de glicose no sangue da placenta da gestante diabética fosse provavelmente um dos fatores etiológicos desta macrossomia (182). Esta afirmação foi ampliada por Jorge Pedersen em 1954, que propôs a hipótese da hiperglicemia-hiperinsulinemia, um conceito que tem influenciado muito a pesquisa neste campo (163).

White observou em 1949 (229), assim como Duncan anteriormente, que a presença de diabetes na gestação era perigosa para o feto e o recém-nascido devido ao alto risco de mortalidade intra-útero e neonatal, principalmente por sofrimento respiratório.

Le Corche, há mais de cem anos, chamou a atenção para a associação de diabetes gestacional e malformação fetal ao escrever (182): “Se a diabetes não é um obstáculo completo à fertilidade, ela parece produzir danos graves no produto da concepção, prejudicando sua nutrição, encurtando seus dias ou produzindo falhas no desenvolvimento que são incompatíveis com a vida”. Esta alta mortalidade neonatal inicialmente presente entre os recém-nascidos de mães diabéticas (RNMD) teve uma queda significativa desde a descoberta da insulina em 1921 (139, 180, 182). Nas primeiras décadas depois da descoberta da insulina, a mortalidade perinatal em RNMD insulino-dependentes era de aproximadamente 33%. Durante o período entre 1940 até 1960 (57), esta mortalidade caiu aproximadamente 20%, devido a introdução do conceito de tratamento em equipe, desenvolvido por Priscilla White e à interrupção precoce da gestação, para prevenir natimortos e traumas conseqüentes da macrosomia (182). No início da década de 70, a mortalidade perinatal caiu para 10%, devido à monitorização fetal, às melhorias no tratamento dos recém-nascidos e ao advento de técnicas que avaliam o bem estar e a maturidade pulmonar fetal (105, 182). No final da década de 70, a mortalidade caiu para 6,5%. O foco, desta vez, foi no controle da diabetes materna e na manutenção de níveis de glicose adequados na mãe. Nos

últimos dez anos, ocorreu uma redução ainda maior na mortalidade perinatal, que diminuiu para 2,1%, mas que ainda é aproximadamente o dobro da mortalidade dos recém-nascidos normais nos países de primeiro mundo. Esta mortalidade perinatal excessiva é atribuída a uma incidência maior de malformações congênitas graves (57, 116, 120, 127, 128, 139, 140, 143, 151, 180, 181, 182).

Tem sido amplamente demonstrado na literatura (116, 143, 181, 182) que apesar de um controle metabólico cuidadoso das pacientes com diabetes, durante a gestação, expressa pelos níveis séricos de glico-hemoglobina, os fetos de mães diabéticas demonstram um crescimento cardíaco acelerado em relação aos fetos de mães não diabéticas e que ocorre principalmente durante o último trimestre da gestação (58, 87, 116, 127, 128, 151, 163, 168, 184, 226). Estas anormalidades resultam em um espessamento progressivo do miocárdio, particularmente evidente ao nível do septo interventricular (mas que também podem comprometer as outras paredes ventriculares), fazendo com que estes fetos apresentem uma forma de miocardiopatia hipertrófica que geralmente regride espontaneamente nos primeiros 3 a 6 meses de vida (41, 53, 81, 87, 116, 127, 181, 182, 225, 237). Os sintomas clínicos parecem estar diretamente relacionados ao grau de obstrução dinâmica da via de saída do ventrículo esquerdo e ao grau de disfunção diastólica do mesmo, os quais podem resultar em insuficiência cardíaca no período neonatal (143, 224). A incidência desta entidade em RNMD varia grandemente de estudo para estudo, oscilando

de 15 até 95% em algumas publicações (58, 116, 127, 128, 163, 181, 182, 184, 224, 225, 226, 235, 237).

A origem deste crescimento cardíaco acelerado em fetos de mães diabéticas permanece obscura. Pedersen e colaboradores sugeriram inicialmente, que a hiperglicemia materna estimularia uma produção exagerada de insulina fetal que, por sua vez, levaria a adiposidade fetal, macrossomia e organomegalia (163).

Esta hipótese ofereceu uma base de raciocínio inicial importante mas, conforme foi afirmado acima, diversos trabalhos comprovaram a falta de relação entre um controle metabólico materno adequado e a macrossomia ou a organomegalia fetal (120, 125, 127, 128, 139, 143, 166, 180, 225). Esta falta de uniformidade na literatura demonstra a necessidade de um entendimento melhor da interação entre as influências do controle metabólico materno, as características genéticas e os fatores de crescimento intra-uterino na etiologia da hipertrofia cardíaca e da macrossomia nestes recém-nascidos. Não existem estudos confirmando uma associação entre macrossomia e organomegalia (ou hipertrofia cardíaca) que sugira um agente metabólico único alterando de maneira uniforme o crescimento corporal e de diferentes órgãos. A hipertrofia cardíaca em RNMD é transitória (116, 181, 224, 225, 237), sugerindo que o ambiente metabólico anormal intra-uterino estimule ou desencadeie um processo reversível de crescimento celular, que se interrompe com a retirada deste estímulo. É possível aventar a hipótese de que diferentes ofertas de

substrato alterem transitoriamente a sensibilidade das células cardíacas fetais a fatores que aceleram o crescimento miocárdico.

A insulina e os fatores de crescimento semelhantes a insulina, (IGF), são peptídeos estruturalmente relacionados cujas funções parecem ter divergido durante a evolução. Em geral, a insulina funciona como um hormônio que é crítico no controle da homeostase dos carboidratos, lipídios e proteínas. Os IGFs são classicamente considerados reguladores do crescimento e da diferenciação celular (16, 27, 30, 31, 32, 33, 34, 47, 56, 62, 70, 97, 121, 178, 200). Cada peptídeo se liga com alta afinidade a distintos receptores em diferentes tecidos e é esta interação específica entre ligante-receptor, modulada por proteínas ligadoras, que determina os efeitos biológicos de cada peptídeo (32, 36, 37, 39).

Existem na literatura vários trabalhos (32, 34, 44, 55, 70, 82, 97, 179, 219) demonstrando uma expressão aumentada de RNA mensageiro de IGF-1 (IGF-1mRNA) no miocárdio de animais de laboratório em vários modelos de hipertrofia cardíaca, sugerindo uma ação direta mitogênica de IGF-1 nas células cardíacas. Não existe, até o presente momento, nenhum trabalho na literatura demonstrando associação entre hipertrofia cardíaca em recém-nascidos de mães diabéticas e níveis séricos de fatores de crescimento semelhantes à insulina e suas respectivas proteínas carregadoras. Um estudo abordando a participação dos fatores de crescimento nesta patologia específica é importante, porque pode colaborar no entendimento das

hipertrofias em geral, através da compreensão dos mecanismos metabólicos estimuladores da ação mitogênica dos fatores de crescimento ao nível celular.

É interessante observar que, na maioria dos trabalhos publicados, a hipertrofia cardíaca se apresenta em recém-nascidos macrossômicos, filhos de mães diabéticas. Mace e colaboradores no entanto, em estudos realizados em 1979, concluíram que o peso de nascimento não influía na espessura septal. Os autores, todavia, não fizeram uma comparação estatística entre RN macrossômicos de mães não diabéticas e recém-nascidos adequados para a idade gestacional, também de mães não diabéticas (127, 128). Zielinsky encontrou uma incidência aumentada de hipertrofia septal em recém-nascidos com mais de 4Kg (235). Este achado não foi significativo quando o grupo inteiro de RN grandes para a idade gestacional foi analisado. Existe uma tendência na literatura em aceitar que a macrossomia neonatal não está associada a hipertrofia cardíaca neonatal. Esta hipótese, no entanto, ainda não foi completamente comprovada. A resposta a esta pergunta é importante, na medida em que pode demonstrar que os tecidos e órgãos fetais podem responder diferentemente, com características próprias e individuais, a um aumento da oferta de um substrato metabólico específico.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Hipertrofia Cardíaca em Filhos de Mães Diabéticas

Em 1943, Miller e Wilson chamaram a atenção, pela primeira vez, para o achado de cardiomegalia nas radiografias de tórax de recém-nascidos de mães diabéticas com cianose, disfunção respiratória e insuficiência cardíaca (141). Os autores sugeriram uma relação de causa-efeito, já que a cardiomegalia desaparecia com a melhora dos sintomas. Em 1960, Driscoll e colaboradores relataram peso cardíaco aumentado entre os filhos de mães diabéticas mortos no período pós natal (57). Eles notaram que a cardiomegalia era desproporcional ao aumento dos outros órgãos. Trinta e sete por cento dos corações pesavam mais do que 2 desvios-padrão acima do normal e muitos até 3 desvios-padrão. Desde então, vários trabalhos tem sido publicados confirmando esta alteração, descrevendo a sua patogênese e demonstrando uma prevalência que varia de 15% a 95%, conforme a série estudada (57, 87, 116, 127, 128, 151, 163, 181, 189, 224, 225, 226, 235, 236, 237).

O advento da ecocardiografia foi fundamental para uma definição mais precisa da hipertrofia cardíaca que acomete os recém-nascidos de mães diabéticas. Zielinsky demonstrou, por ecocardiografia uni e bidimensional, uma prevalência de 27,1% de hipertrofia miocárdica fetal numa amostra de gestantes diabéticas com controle ambulatorial em Porto Alegre (235). O autor estabeleceu seus próprios índices de normalidade para cada idade gestacional através de estudos em fetos normais.

Gutgesel e colaboradores, considerando hipertrofia do septo interventricular cardíaco um diâmetro septal igual ou maior do que 6 mm, encontraram uma prevalência de 50% de hipertrofia septal nos recém-nascidos sintomáticos de mães diabéticas e de 13% nos assintomáticos (81). A média do diâmetro septal nos recém-nascidos normais nestes estudo foi de 4 mm, com um desvio-padrão de 0,2 mm. Os autores comentam que, se considerassem hipertrofia septal um diâmetro do septo igual ou maior do que 5 mm, a prevalência de hipertrofia nos filhos de mães diabéticas seria de 87,5% em recém-nascidos sintomáticos e de 55% em assintomáticos. Breitwieser e colaboradores, considerando hipertrofia septal um septo maior ou igual a 6 mm, encontraram uma prevalência de hipertrofia septal de 27,7% em recém-nascidos de mães diabéticas (26). Neste estudo, não houve associação entre a presença de hepatomegalia e hipertrofia cardíaca. Por outro lado, o estudo demonstrou uma associação forte entre hipoglicemia, glicose igual ou menor do que 20mg/dl e hipertrofia cardíaca. Não foram analisadas a presença ou não de sintomas nos recém-nascidos, o tipo de diabetes da mãe ou o grau de

controle da glicemia materna. Rizzo e colaboradores, em um estudo longitudinal entre 26 a 36 semanas de gestação em fetos de mãe diabéticas insulino-dependentes (tipo I), com um controle adequado dos níveis de glicose, observaram um aumento progressivo e exagerado do septo interventricular e das paredes livres dos ventrículos direito e esquerdo em relação aos controles (185). Este crescimento foi particularmente evidente no final do segundo trimestre. Estes autores também observaram padrões ecocardiográficos compatíveis com disfunção diastólica nestes pacientes. O aumento das paredes cardíacas e a disfunção diastólica não tiveram relação com a glicohemoglobina materna, com as dosagens de glicemia, com a média de insulina recebida diariamente pela mãe, com o peso fetal estimado ou com o peso de nascimento do recém-nascido. As dimensões das paredes cardíacas foram diretamente proporcionais ao diâmetro biparietal fetal.

Todos os estudos sobre hipertrofia cardíaca nos recém-nascidos de mães diabéticas são unânimes em afirmar que a hipertrofia é localizada preferencialmente no septo interventricular, mas que pode abranger de maneira uniforme todas as paredes dos ventrículos esquerdo e direito. Além disso, é consenso na literatura que o ventrículo esquerdo é mais freqüentemente envolvido do que o direito (58, 87, 116, 127, 128, 151, 163, 181, 189, 224, 225, 235).

2.1.1 Achados clínicos e tratamento

O espectro clínico e patológico da hipertrofia cardíaca do RNMD tem uma variação ampla, não relacionada com a gravidade ou com a duração da diabetes na mãe (87, 127, 128, 163, 224). Os recém-nascidos podem apresentar uma constelação de sintomas caracterizada por cianose, moteamento, taquipnéia, taquicardia, sopro e insuficiência cardíaca congestiva, assim como podem ser completamente assintomáticos (81, 116, 182).

A cardiomegalia em filhos de mães diabéticas pode ser secundária a várias causas além de miocardiopatia, incluindo defeitos anatômicos cardíacos, asfixia neonatal, hipoglicemia, policitemia e hipocalcemia. É importante determinar portanto, o estado funcional e anatômico do coração pelo método de ecocardiografia bidimensional com Doppler.

Os achados eletrocardiográficos podem ser normais ou revelar hipertrofia ventricular esquerda com alterações na repolarização ventricular. A radiografia de tórax, embora normal na maioria das vezes, pode mostrar cardiomegalia (81, 127, 181, 182). Pacientes sintomáticos necessitam de manejo cuidadoso de líquidos e eletrólitos, manutenção de oxigenação adequada, correção de policitemia, hipoglicemia e hipocalcemia quando presentes.

Os diuréticos devem ser utilizados com cuidado e somente se existem indicações claras de edema e hipervolemia. Digoxina e outros inotrópicos são contra-indicados (58, 81, 127, 131, 140, 149, 151, 163). Em recém-nascidos

sintomáticos, com hipertrofia cardíaca, propanolol pode ser usado, com bons resultados clínicos (127, 149, 163, 182).

2.1.2 Achados ecocardiográficos.

O advento da ecocardiografia permitiu um diagnóstico mais preciso da hipertrofia cardíaca encontrada nos filhos de mães diabéticas. De 1976 a 1980 dois grupos de investigadores diferentes (81, 224) descreveram achados ecocardiográficos característicos, que se assemelham muito com aqueles encontrados em adultos com miocardiopatia hipertrófica assimétrica. Assim como na miocardiopatia assimétrica, o septo interventricular espessado pode opor-se ao folheto anterior mitral durante a sístole, produzindo uma obstrução do fluxo aórtico. A correlação ecocardiográfica deste fenômeno hemodinâmico é a demonstração do fechamento dos folhetos aórticos no meio da sístole.

Numerosos estudos compararam os achados ecocardiográficos de fetos e recém-nascidos de mães diabéticas, sintomáticos e assintomáticos, com fetos e recém-nascidos normais de mães não diabéticas, com mesmo peso e idade gestacional. A hipertrofia miocárdica, muitas vezes generalizada, e o aumento da contratilidade são os achados mais notórios e mais comuns, tanto em RNMD assintomáticos como nos sintomáticos (58, 81, 116, 128, 140, 224, 235, 236, 237). Mace e colaboradores, em 1979, demonstraram que RNMD tem um espessamento das paredes cardíacas, em relação aos controles, mais acentuada no septo interventricular e menos marcada nas paredes

ventriculares (128). Os autores encontraram que, nos RNMD com sintomas de insuficiência cardíaca, a espessura septal e a contratilidade ventricular eram maiores que nos assintomáticos ou com sintomas respiratórios. Foi demonstrada obstrução na via de saída do ventrículo esquerdo em 59% dos pacientes com insuficiência cardíaca e em 12,5% dos pacientes assintomáticos (128). Os autores sugerem que o miocárdico hipertrófico pode apresentar uma deficiência do relaxamento ventricular, alterando o enchimento cardíaco e produzindo congestão venosa pulmonar.

Gutgesell e colaboradores corroboraram os achados ecocardiográficos de hipertrofia septal, mas não encontraram obstrução da via de saída do ventrículo esquerdo em RNMD assintomáticos. Os autores encontraram, tanto em RNMD assintomáticos como nos sintomáticos, uma diminuição do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo em relação aos recém-nascidos normais (81). Halliday e colaboradores confirmaram a predominância de hipertrofia septal em RNMD sintomáticos e demonstraram que o período de pré-ejeção do ventrículo esquerdo era aumentado nas primeiras vinte quatro horas de vida em relação aos RN normais de mães não diabéticas (87). Esta alteração não estava relacionada com o grau de hipertrofia.

Na década de 90, a ecocardiografia com Doppler tornou-se a técnica de escolha na avaliação da função diastólica ventricular devido a sua capacidade de medir diretamente, de uma maneira rápida e não invasiva, a velocidade do fluxo sanguíneo transvalvar (35, 154, 155). A primeira descrição das taxas de enchimento volumétrico foi realizada com a cineangiografia de alta resolução,

baseada na análise das variações volumétricas do ventrículo esquerdo durante a diástole (154). Logo a seguir, outras modalidades capazes de analisar alterações seqüenciais no volume ventricular, tais como a ecocardiografia unidimensional e a angiografia com radionucleotídeos foram descritas (154). Todos estes métodos demonstraram que no início da diástole ocorre um enchimento ventricular rápido com um rápido aumento volumétrico, seguido por uma fase de enchimento lento e que no final desta ocorre um novo aumento rápido de volume devido à contração atrial. Estas flutuações de volume geraram um gráfico característico da curva de enchimento volumétrico que demonstra as fases de enchimento em forma de duas ondas distintas.

Kitabatake e colaboradores observaram em 1982 (154), que as características da curva de velocidade do Doppler pulsado através da válvula mitral eram semelhantes às da primeira curva derivativa dos estudos iniciais de enchimento volumétrico e propuseram que a velocidade de fluxo mitral adquirida por Doppler pulsado refletia as mudanças de volume ventricular esquerdo. Estudos subseqüentes, comparando as duas curvas por cateterismo cardíaco e angiografia, demonstraram uma boa correlação (o r variou de 0,68 a 0,76) entre as duas curvas (154, 205), permitindo, desde então, que a ecocardiografia com Doppler fosse utilizada para avaliação da função diastólica ventricular.

As medidas da função diastólica por Doppler são o produto do relaxamento e contração atriais e ventriculares, da complacência, do volume e da pós carga. No início da diástole, no intervalo entre o fechamento da válvula

aórtica e a abertura da válvula mitral, ocorre o período de relaxamento isovolumétrico. Quando as válvulas atrioventriculares se abrem, há um aumento rápido da velocidade do fluxo de entrada até um pico máximo que coincide com o terceiro ruído cardíaco (35). Com o enchimento ventricular, a velocidade de entrada de sangue sofre uma desaceleração até voltar a seus níveis iniciais. Estes eventos compõem a onda E de Doppler através das válvulas atrioventriculares. A contração atrial subsequente é demonstrada pela onda A de Doppler e coincide com o quarto ruído cardíaco (35). Assim como em outras modalidades, as medidas do pico da velocidade de enchimento rápido (onda E) por ecocardiograma com Doppler se mostraram anormais em pacientes com diversas patologias. Devido à facilidade de mensuração da contribuição da contração atrial, a relação da velocidade de enchimento rápido inicial (onda E) com a velocidade de enchimento tardio (onda A), razão E:A, também foi analisada em diversos estudos (155).

Uma diminuição da onda E, um aumento da onda A, com uma razão E:A menor do que 1, foram encontradas em patologias associadas com um retardo na captação ativa de cálcio pelo retículo sarcoplasmático, em pacientes com hipertrofia cardíaca, envelhecimento e isquemia ventricular (35, 155). Na miocardiopatia hipertrófica familiar ou idiopática a altura da onda E é variável. O aumento significativo da onda E foi encontrado em pacientes com pericardite constrictiva e regurgitação mitral (155).

A partir destes achados e sua comparação com dados clínicos e de estudos hemodinâmicos, foi possível determinar os seguintes critérios de

Doppler determinantes de anormalidade diastólica ventricular em adultos: razão entre as medidas de velocidade das ondas E:A menor do que 1, aumento no tempo de desaceleração maior do que 220ms (35, 68, 79) e velocidade de relaxamento isovolumétrico maior do que 100m/s (35, 68, 155).

Em recém-nascidos, nos primeiros dias de vida, os valores normais descritos na literatura do tempo de desaceleração variam entre 23 a 35ms, da razão do pico das velocidades E:A mitral entre $1,13 \pm 0,30$ e da tricúspide entre $0,78 \pm 0,25$ (83, 99, 133, 136, 175, 176, 184, 209). O aumento da velocidade da onda A através da válvula tricúspide, com relação E:A menor do que 1 é explicada pela presença de resistência pulmonar ainda elevada no período de transição entre a vida intra e extra-uterina (190).

Em 1991, Rizzo e colaboradores demonstraram disfunção diastólica em fetos de mães diabéticas, expressa pela relação anormal entre as velocidades das ondas de Doppler que caracterizam o enchimento ventricular rápido (onda E) e a contração atrial (onda A) ao nível mitral e ao nível tricuspídeo (184). Em 1992, estes mesmos autores fizeram um estudo longitudinal com fetos de mães diabéticas e de mães não diabéticas, acompanhando com ecocardiograma mais Doppler desde 20 semanas até 36 semanas de gestação (185). Neste estudo, encontraram que os fetos de mães diabéticas tinham um retardo no desenvolvimento da função diastólica, demonstrada pela ausência de um aumento gradual da velocidade da onda E em relação à onda A (razão E:A), mitral e tricúspide com o desenvolvimento da gestação, como ocorreu nos fetos normais. Os índices de contratilidade estavam aumentados em

relação aos controles em todas as idades gestacionais estudadas. As alterações hemodinâmicas encontradas não tiveram relação com o controle da diabetes na mãe nem com o tipo de diabetes materno.

É descrito que a obstrução da via de saída do ventrículo esquerdo pode ocorrer em aproximadamente 18% dos recém-nascidos de mães diabéticas, independentemente de estarem presentes sintomas (81, 87, 224).

2.1.3 Achados patológicos e histológicos

Os estudos anatômicos "postmortem" em natimortos revelam que o coração dos filhos de mães diabéticas são mais pesados do que o coração de bebês normais de tamanho e idade gestacional semelhantes (57, 81, 139, 140, 143). Estes estudos demonstram hipertrofia miocárdica septal ou generalizada, com diminuição do diâmetro das cavidades ventriculares. Os achados histológicos encontrados consistem em alterações vacuolares e hidrópicas inespecíficas das células miocárdicas, hiperplasia e hipertrofia das fibras miocárdicas, com aumento da massa do núcleo e do sarcoplasma (140, 143). Nos casos de hipertrofia mais severa foram encontradas áreas de necrose subendocárdica e desorganização das fibras musculares restrita a pequenas áreas, menos do que 5%, do septo interventricular. Colorações especiais falharam em demonstrar deposição excessiva de glicogênio, ou outros materiais, nas células cardíacas ou no interstício miocárdico (81). Mace e colaboradores, examinando espécimens de necrópsia, demonstraram que a

hipertrofia septal é causada por modificações miocárdicas e não por depósitos de glicogênio (127).

2.1.4 História natural e diagnóstico diferencial

Os achados clínicos e patológicos da hipertrofia cardíaca nos recém-nascidos de mães diabéticas são descritos na literatura como transitórios e de caráter benigno. Os sintomas e achados clínicos desaparecem na maioria das vezes nas primeiras semanas de vida, embora o achado de hipertrofia cardíaca na ecocardiografia possa levar alguns meses para desaparecer. A radiografia de tórax normaliza-se entre 3 e 20 meses de vida e o eletrocardiograma entre 2 a 6 meses (189). Os casos fatais descritos estão geralmente relacionados a outros problemas associados, tais como doença da membrana hialina, sepsis e prematuridade.

Estudos ecocardiográficos e entrevistas com familiares próximos destes recém-nascidos demonstraram ausência de miocardiopatia hipertrófica e de história de morte súbita (81, 181, 183).

É preciso ter em mente que a hipertrofia septal assimétrica pode ser um achado inespecífico associado com qualquer patologia que cause hipertensão ventricular direita (74, 149). As miocardiopatias de depósito como a doença de Gaucher ou síndrome de Hurler, apresentam-se além do período neonatal e os pacientes possuem características fenotípicas ausentes nos RNMD.

A miocardiopatia hipertrófica assimétrica, embora tenha achados patológicos e ecocardiográficos semelhantes aos encontrados em recém-nascidos de mães diabéticas tem uma etiologia e um desfecho clínico completamente diferentes. A miocardiopatia hipertrófica assimétrica também se caracteriza por um músculo miocárdico hipertrófico e rígido, com predominância da hipertrofia do septo interventricular, um relaxamento miocárdico anormal e uma contractilidade aumentada e descoordenada. A desorganização das fibras miocárdicas no entanto é extensa e não se limita ao septo interventricular (74, 78, 135, 149). A miocardiopatia hipertrófica assimétrica é uma doença de origem familiar, mais comum no sexo masculino, com transmissão autossômica dominante, podendo ter caráter progressivo e um prognóstico variável (74, 135, 149).

Na hipertrofia miocárdica em RNMD o percentual de células desorganizadas é pequeno e restrito ao septo interventricular. Por isso, a tendência na literatura atual é não considerar a hipertrofia cardíaca dos recém-nascidos de mães diabéticas como uma miocardiopatia e sim como uma hipertrofia secundária e transitória (74, 149).

2.1.5 Etiologia

A causa desta prevalência aumentada de hipertrofia cardíaca nos recém-nascidos de mães diabéticas tem sido largamente estudada, mas permanece obscura.

Pedersen e colaboradores (163) em 1967, baseados nos achados de Miller em 1943 (140), sugeriram que a presença de hiperglicemia materna levaria a uma hiperglicemia no feto através do mecanismo de difusão facilitada e a uma hipertrofia das ilhotas de Langerhans do pâncreas fetal, com conseqüente hiperinsulinismo. A combinação de hiperglicemia e hiperinsulinemia causaria um aumento da captação hepática de glicose e da síntese de glicogênio, aceleraria a lipogênese e aumentaria a síntese de proteínas, com conseqüente macrossomia e hipertrofia cardíaca. Existem vários trabalhos na literatura reforçando a hipótese de Pedersen de que a hiperglicemia materna é o fator desencadeante primário da macrossomia e hipertrofia cardíaca fetal.

Cardel demonstrou hipertrofia e hiperplasia das ilhotas pancreáticas em recém-nascidos de mães diabéticas comprovando a hipótese de hiperinsulinismo fetal em resposta à hiperglicemia materna (29). Steinh e Driscoll demonstraram hiperinsulinismo em fetos de mães diabéticas (206). Yakovac e colaboradores (230) e Breitwieser e colaboradores (27), relataram a presença de hipertrofia cardíaca em recém-nascidos com neisidioblastose, uma patologia autossômica recessiva caracterizada por um hiperinsulinismo refratário à hipoglicemia, devido a alterações das células pancreáticas (17). Os níveis elevados de insulina no feto com neisidioblastose fazem com que ocorra um aumento da utilização da glicose materna, simulando a fisiopatologia da diabetes gestacional.

Langer e colaboradores (110) demonstraram que os níveis de glicemia materna em gestantes diabéticas, eram diretamente proporcionais ao peso de nascimento dos recém-nascidos. Gestantes diabéticas com níveis de glicemia constantemente baixos, tinham um risco 2,5 vezes maior do que na população em geral de darem à luz a recém-nascidos pequenos para a idade gestacional. Por outro lado, as mães com altos níveis de glicemia tinham um risco de 3,95 vezes maior de darem à luz a bebês grandes para a idade gestacional. Os autores não fizeram correlação com presença ou não de hipertrofia cardíaca ou outras organomegalias com os níveis de glicemia maternos.

Freinkel e Metzger expandiram a teoria inicial de Pedersen, em 1979, apontando para a influência de outros nutrientes maternos além da glicose, na estimulação exagerada da insulina fetal (69). Foi demonstrado por vários investigadores que as células beta pancreáticas fetais, humanas e de roedores, secretam menos insulina em resposta a uma estimulação de glicose do que células adultas (69, 92, 94, 102). Estas células, por outro lado, apresentam uma resposta aumentada a outros estímulos não nutrientes, tais como a teofilina, que estimulam a ação da proteína quinase C, sugerindo uma imaturidade específica na etapa do reconhecimento celular do nutriente (92, 94). Freinkel e colaboradores (69) e Hellerström e colaboradores (92), demonstraram em animais de laboratório, que uma exposição crônica das células pancreáticas fetais a níveis de glicose acima dos basais provoca uma maturação celular intra-útero e uma resposta de liberação de insulina semelhante à das células adultas (92). Vários trabalhos demonstram, no

entanto, que não existe relação entre o controle da diabetes materna (estabelecido pelos níveis maternos de glicemia e glico-hemoglobina), o tipo de diabetes e hipertrofia cardíaca ou macrossomia fetal (87, 120, 125, 127, 128, 139, 143, 165, 180, 225), demonstrando uma grande controvérsia ainda existente na literatura quanto a etiologia e a fisiopatologia do crescimento cardíaco anormal e da macrossomia em filhos de mães diabéticas.

Gutgesell e colaboradores encontraram que um controle metabólico rigoroso nas mães diabéticas durante a gestação, aferido pelos níveis de glico-hemoglobina, previne a macrossomia fetal mas não a hipertrofia cardíaca (81). Rizzo e colaboradores (184), estudando a função cardíaca em fetos de mães diabéticas insulino-dependentes submetidas a rigoroso controle metabólico, observaram um aumento da espessura do septo interventricular, com repercussões sobre a função diastólica, a despeito do controle metabólico adequado, averiguado com medidas freqüentes da glicemia materna e glico-hemoglobina. O grau de hipertrofia cardíaca não teve correlação com os níveis de glicemia materna. Zielinsky e colaboradores, em um estudo retrospectivo em 70 fetos de gestantes diabéticas de Porto Alegre, também não encontraram correlação entre miocardiopatia hipertrófica fetal e níveis maternos de glicemia, glico-hemoglobina ou uso de insulina pela mãe (236).

Stenninger e colaboradores, estudando recém-nascidos de mães diabéticas na Suécia, não observaram correlação entre os níveis maternos de hemoglobina glicosilada (HbA1c), hipertrofia cardíaca e o peso de nascimento dos filhos (207). Estes e outros achados fizeram com que se repensasse na

teoria inicial proposta por Pedersen e se continuasse na busca de uma explicação adequada dos fatores causais deste hipertrofia.

Vários autores sugerem o hiperinsulinismo, por si só, independente dos níveis de glicemia materna, como causa da hipertrofia cardíaca e da macrossomia em fetos de mães diabéticas. Steinh e colaboradores demonstraram que a massa das células β -pancreáticas já estão aumentadas nos fetos de mães diabéticas entre 16 a 20 semanas de gestação, em relação aos fetos de mães não diabéticas. Esta diferença se acentua ainda mais entre 21 a 26 semanas de gestação (206). O aumento na secreção de insulina pelo feto é paralelo à massa de células β - pancreáticas.

Baseado nos achados de Reiher e colaboradores, Metzger propôs que alterações nos níveis de nutrientes maternos durante o segundo trimestre da gestação estimulassem a hiperplasia das células β -pancreáticas fetais e que, após o desenvolvimento desta hiperplasia se estabelecesse uma secreção aumentada de insulina, a despeito de um controle metabólico posterior ótimo (139). Se a secreção de insulina pelas células β estiver aumentada em resposta a estimulação de nutrientes, uma hiperinsulinemia ainda maior ocorrerá.

O teste de tolerância à glicose nas gestantes é realizado na 24 semana de gestação, quando a hiperplasia das células pancreáticas fetais, com conseqüente hiperinsulinismo, já está estabelecida, explicando a falta de correlação entre os níveis maternos de glicemia no terceiro trimestre da gestação e a macrossomia ou a hipertrofia cardíaca fetal. Metzger é categórico

ao afirmar que a hiperinsulinemia sustentada pode exercer efeitos anabólicos importantes nos tecidos sensíveis à insulina, mesmo sem um aumento concomitante dos nutrientes (138). As afirmações acima são corroboradas pelo trabalho de Susa e colaboradores, realizado em fetos de macacos Rhesus, que se constituiu na implantação subcutânea de microbombas osmóticas com liberação contínua de insulina, por um intervalo de 3 semanas no último trimestre da gestação (208). As concentrações de insulina e nutrientes maternos mantiveram-se inalteradas e um aumento de 10 vezes na insulina plasmática fetal foi obtido. Os autores puderam observar que a hiperinsulinemia propiciou um aumento de 23% no peso fetal e um aumento significativo nas massas cardíaca e do fígado. O grau de macrosomia foi similar tanto nos fetos que receberam altas doses quanto nos que receberam baixas doses de insulina. O coração fetal foi significativamente mais pesado, mesmo nos fetos que receberam baixas doses de insulina.

Procianoy e colaboradores (170) e Epstein e colaboradores (65) no entanto, demonstraram hiperinsulinemia em fetos de mães não diabéticas tratadas com drogas beta-simpaticomiméticas, tanto por curtos como por longo espaço de tempo, sem constatarem macrosomia fetal ou hipertrofia cardíaca associadas ao uso destas drogas. Os níveis de insulina fetal também estão aumentados na doença hemolítica fetal e nos fetos de mães usuárias de glicocorticóides (227) sem associação com macrosomia fetal ou hipertrofia cardíaca.

Recentemente, Glória-Bottini e colaboradores (23), demonstraram que certos genomas maternos e fetais específicos têm fator preditivo positivo significativo para a macrossomia fetal. Os autores demonstraram que mães portadoras do gene fosfoglucomutase₁ 2-1(PGM₁ 2-1) alelo E (Rh) aparentemente têm seus fetos protegidos de macrossomia. A interação entre PGM₁ e RhE sugere que genes localizados em um longo segmento do braço curto do cromossoma 1 podem estar sinergisticamente envolvidos na suscetibilidade fetal à macrossomia durante a diabetes gestacional. Os autores também encontraram que a proporção de recém-nascidos macrossômicos é muito menor nos fetos portadores do alelo IGF1Hs do que nos portadores do alelo FF, demonstrando uma relação na variabilidade estrutural normal da área genotípica de IGF-1 e no aumento da massa corporal fetal. Não existem até o presente momento, na literatura, trabalhos correlacionando fatores de crescimento ou alterações gênicas e hipertrofia cardíaca nos filhos de mães diabéticas.

2.2 Fatores de Crescimento Semelhantes à Insulina

Os fatores de crescimento semelhantes à insulina, (IGFs), são peptídeos potentemente anabólicos e mitogênicos que compartilham homologia estrutural com a insulina e são encontrados na maioria dos tecidos dos mamíferos (4, 7, 20, 27, 30, 31, 38, 44, 54, 56, 61, 70, 97, 106, 134, 177, 178, 179, 219). Eles

possuem efeitos metabólicos e tróficos semelhantes à insulina e promovem a expressão de funções diferenciadas.

O eixo dos fatores de crescimento semelhantes à insulina é composto por uma rede de moléculas envolvidas no controle da proliferação celular (7, 36, 37). Ele inclui quatro maiores classes de proteínas: os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs), os receptores de IGF (IGF-R), as proteínas ligadoras de IGF ou "IGF-binding proteins" (IGFBP) e as IGFBP proteases. Os dois principais componentes, IGF-1 e IGF-2, são peptídeos de 7,5 kda altamente homólogos à pro-insulina e estão parcialmente sob o controle do hormônio de crescimento (15, 19). Os IGFs são secretados em múltiplos tecidos, incluindo o fígado, cartilagem e o coração, e tem ação endócrina e autócrina-parácrina (7, 104, 134, 164, 178, 179, 188).

Os IGFs exercem sua ação mitogênica através de receptores da superfície celular, entre estes o receptor de IGF tipo 1 (IGFR-1), um heterotretâmero da tirosinaquinase, que é homólogo ao receptor de insulina (7, 20, 36, 80, 82). Ambos são glicoproteínas heterotretaméricas que contém duas subunidades alfa extracelulares que ligam o fator e duas subunidades beta transmembrana que contém a enzima tirosinaquinase na suas porções citoplásmicas (7, 36, 37, 80, 82). A atividade tirosinaquinase está envolvida na maioria, se não em todas, as ações biológicas destes receptores (37, 82). O IGF-2 também interage com o receptor de IGF tipo-2 (IGFR-2), conhecido como receptor catium independente da manose 6 fosfato que transporta enzimas lisossômicas do aparelho de Golgi para os lisossomas (7, 71). Ele não

possui atividade enzimática de tirosinaquinase na sua cadeia citoplásmica curta, mas pode mediar o influxo de cálcio celular. Em concentrações fisiológicas IGF-1 e IGF-2 estimulam os receptores IGF tipo-1, mas também são capazes de ativar os receptores de insulina em altas concentrações (7, 121, 177, 188). A insulina se liga aos receptores IGFR-1 com baixa afinidade e não se liga aos receptores de IGFR-2.

Ao contrário da insulina, que circula na sua forma livre e em baixas concentrações nanomolares, os IGF são encontrados no soro em altas concentrações nanomolares ligados a proteínas em complexos binários ou ternários (7, 18, 36, 37, 49, 121, 188). Na verdade, os IGF se ligam com alta afinidade a uma família de seis proteínas extracelulares conhecidas como proteínas ligadoras de IGF (IGFBP), que carregam os IGFs na circulação, regulam a disponibilidade dos respectivos receptores e modulam o crescimento celular (18, 19, 36, 37, 212). Os níveis de IGFBP intactas na circulação e certos tecidos são determinados também pela atividade de um grupo de enzimas que funcionam como proteases de IGFBP, partindo-as e alternando sua afinidade pelos IGFs, modulando, desta forma, a ação dos IGF (36, 37, 212). Os IGF, seus receptores e suas proteínas ligadoras tem ação no crescimento e diferenciação dos tecidos normais assim como na transformação neoplásica (2, 3, 5, 6, 9, 12, 16, 20, 27, 30, 31, 32, 33, 38, 39, 44, 55, 61, 63, 70, 89, 97, 106, 111, 112, 117, 118, 121, 134, 177, 210, 213, 218, 219, 233).

A tabela abaixo demonstra as semelhanças e diferenças entre a insulina e os fatores de crescimento semelhantes à insulina.

Tabela 1 - Comparação entre insulina e IGFs

	Insulina	IGF-1	IGF-2
Cromossoma humano	11p	12q	11p
Gene	3 exons	6 exons	9 exons
Estrutura protéica			
Precursor	Peptídeo sinal domínios B, C e A		Peptídeo sinal; domínios B, C e A.
Peptídeo maduro	Cadeias B e A ligadas	Extensões carbox. D e E	Cadeias únicas com domínios B, C A e D
Local de Síntese	Pâncreas		Vários tecidos
Regulação da concentração sérica	Nutrientes, hormônios intestinais, glucagon	status nutricional, crescimento,	hormônio de glicose, insulina
Receptores da superf. celular	Heterotetrâmero, homólogo ao de IGF-1	Heterotetrâmero	Proteína de cadeia simples, de 260kda
Proteínas ligantes	Nenhuma	Totalmente BP1	ligados de até BP6
Ações	Metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas	Diferenciação e celular	proliferação

2.2.1 Fator de crescimento semelhante à insulina tipo-1

O IGF-1 ou Somatomedina C, foi descrito pela primeira vez por Salmon e Daughaday em 1957 (195) e caracterizado por Van Wyk e colaboradores em 1974 (7). O IGF-1 é um peptídeo básico com peso molecular de 7.65 kda, constituído de 70 aminoácidos em cadeia única com três pontes dissulfídicas.

Ele é sintetizado como um pró-hormônio, constituindo-se das cadeias A, C, B, D e E. O peptídeo IGF-1 maduro constitui-se das cadeias A, C e B e é 43% estruturalmente homólogo à insulina e 64% ao IGF-2 (7, 121). O gene humano codificador de IGF-1 mede aproximadamente 95 kb e está localizado no braço longo do cromossoma 12 (7, 121).

Por vários anos pensou-se que o fígado era o único local de síntese do IGF-1 e que esta síntese ocorria somente em resposta a estimulação do hormônio de crescimento (117, 118). Enquanto o fígado é realmente a principal fonte de IGF-1 circulante, IGFBP e IGFmRNA estão presentes em vários órgãos incluindo o coração, rim e ossos, demonstrando que o IGF-1 é secretado por vários tecidos. O IGF-1 possui ações endócrina e autócrina-parácrina (7, 18, 20, 49, 55, 61, 77, 86, 118, 121).

O IGF-1 circula no plasma primariamente ligado a proteínas transportadoras, estando 75% ligado à IGFBP-3 e uma subunidade ácido-lábil (ALS), formando um complexo terciário de alto peso molecular, de 150 kda. O IGF-1 também forma um complexo binário com IGFBP-1 de aproximadamente 40kda que encontra-se na circulação e nos tecidos. A meia vida estimada de IGF-1 quando parte do complexo de 150kda é de 12 a 15 horas, quando parte do complexo de 40 kda é de 20 a 30 minutos e quando está na forma livre é de apenas 10 a 12 minutos (15, 19,21, 22, 37, 39, 49). A distribuição de IGF-1 em complexos de 40 kda ou 150 kda é, por conseguinte, o fator determinante da sua biodisponibilidade. Uma pequena porção de IGF-1 circula ligado a outras

IGFBP (IGFBP2,4,5 e 6) e é estimado que aproximadamente menos de 5% do IGF-1 plasmático circule livre (7, 36, 37, 121).

A ação mitogênica do IGF-1 é realizada através de receptores situados na membrana celular incluindo o tipo 1, um heterotetrâmero da tirosinaquinase (7, 36, 71, 80, 121, 177). O IGF-I é mediador de muitos dos efeitos do hormônio de crescimento nos tecidos periféricos (7, 111, 117, 118, 121) e divide com a insulina o mesmo espectro de atividades metabólicas e de promoção de crescimento, sendo que o IGF-1 é menos potente do que a insulina nos seus efeitos metabólicos mas mais potente nos seus efeitos mitogênicos (7, 36, 121).

Reiss e colaboradores (177) relatam que Bazerga e colaboradores e Pietrkowski e colaboradores (167), demonstraram que células que expressam uma quantidade maior de IGF-1 e IGFR são capazes de crescer em um meio completamente livre de soro, sem adição de nenhum fator exógeno de crescimento, estabelecendo que a interação entre IGF-1R e IGF-1 tem, por si só, um papel obrigatório na proliferação de células normais e anormais.

Jørgensen e colaboradores relatam que Romanus e colaboradores e Scharfmann e colaboradores (101) demonstraram, em ratos de laboratório, que o IGF-1 também é produzido pelas células das ilhotas pancreáticas e que quando adicionado exogenamente, "in vitro", estimula a replicação destas células. Foi demonstrado que IGF-1 estimula a proliferação de células eritróides progenitoras na medula óssea de homens e ratos, sugerindo que a eritropoiese, "in vitro", pareça depender de vários sistemas além de

Eritropoietina, incluindo IGF-1 e "Stem Cell Factor" (177). Ito e colaboradores demonstraram, em ratos, que IGF-1 induz hipertrofia das células miocárdicas com aumento concomitante na transcrição dos genes músculo-específicos (MLC-2, troponina 1 e α -actina) através de receptores IGF específicos presentes no coração. Este efeito hipertrófico do IGF-1 no miocárdio, "in vitro", é completamente bloqueado pela IGFBP-3 (97).

Czerwinski e colaboradores demonstraram um aumento, "in vivo" da síntese de proteínas miocárdicas e triplicação da expressão do gene IGFmRNA e IGF-1, concomitante com hipertrofia cardíaca, três dias após a realização experimental de coarctação da aorta em ratos de laboratório (44). Os autores sugerem que a estimulação autócrina-parácrina da expressão do gene de IGF-1 no coração possa estar envolvida no mecanismo do aumento da síntese de proteínas musculares em resposta a um aumento pressórico pós-carga.

Donohue e colaboradores, num modelo de hipertensão realizado em três grupos diferentes, no qual submeteram animais de laboratório a constrição aórtica supra-renal, nefrectomia unilateral isolada e nefrectomia unilateral mais administração de deoxicorticoesteróides (DOCA), demonstraram aumento dos níveis de IGF-1mRNA e da proteína IGF-1 nos três modelos, coincidente com o início de hipertensão arterial sistêmica e o desenvolvimento de hipertrofia ventricular (55). A indução máxima foi de 10 vezes em relação ao grupo controle, 5 semanas após a constrição aórtica, de 8 vezes em 3 semanas nos ratos uninefrectomizados e de 6 vezes em seis semanas no grupo que recebeu

DOCA e sal. Os níveis de RNAmensageiro de IGF-1 retornaram aos valores iguais ao dos controles após o final do experimento nos dois primeiros grupos. Este estudo sugere, pelo padrão de indução do RNAmensageiro de IGF-1 em resposta a um aumento pressórico dos ventrículos, que IGF-1 tenha um papel fundamental na iniciação do processo hipertrófico miocárdico, independente do sistema renina- angiotensina,

Kluge e colaboradores demonstraram, em porcos, que IGF-1 tem papel angiogênico importante durante o infarto do miocárdio provocado por microembolização coronariana com microesferas (106).

Os níveis séricos de IGF-1 são relativamente baixos durante a vida fetal e neonatal no seres humanos, apresentando um aumento gradual durante a infância, um pico na puberdade e um declínio gradual na vida adulta (7, 45, 49, 50, 71, 72, 121).

Após o nascimento, o estado nutricional e o hormônio de crescimento são os maiores reguladores da expressão de IGF-1 (7, 21, 48, 49, 121, 111, 112) embora, em órgãos específicos, outros agentes tróficos exerçam controle direto na expressão local de IGF-1, como por exemplo o estrogênio no útero e o lactogênio placentário no feto (45, 50, 71, 72, 77).

Oliver e colaboradores demonstraram que a glicose é reguladora dos níveis séricos de IGF-1 no feto de ovelhas (160). Têm sido demonstrado que os níveis séricos médios de IGF-1 são levemente maiores no sexo feminino em todas as idades e que esses níveis aumentam durante a gestação (66, 85). Miller e colaboradores, no entanto, não encontraram diferença quanto ao sexo

em prematuros (142). O IGF-1 também é encontrado na urina (172), na saliva (191), na linfa (194), no líquido (188), no líquido amniótico (14, 77), na placenta (145) e no leite materno (66, 152). A concentração plasmática de IGF-1 é reduzida com uma diminuição de aporte energético ou com uma alta demanda metabólica (45, 49, 188). Os níveis plasmáticos de IGF-1 são estabilizados pelas IGFBP, apresentando uma variação diurna negligível, tornando possível aferir os níveis séricos em qualquer horário, sem diferença significativa dos valores devido a variações biológicas (7, 36, 37, 121, 188).

2.2.2 Fator de crescimento semelhante à insulina tipo-2

O IGF-2 é um peptídeo mitogênico constituído de 67 amino ácidos em cadeia única, com peso molecular de 7.5 kda. Ele é sintetizado como um pró-hormônio constituído das cadeias A, C, B, D e E. O peptídeo maduro de IGF-2 é constituído das cadeias A, C e B e é 62% homólogo ao IGF-1 e à pró-insulina. O gene humano para IGF-2 mede aproximadamente 35kb e se encontra no braço curto do cromossoma 11, imediatamente abaixo do gene da insulina (7, 36, 39, 49, 188).

A regulação do gene humano de IGF

-2 é extremamente complexa. Foram identificados quatro promotores para o gene: P1, P2, P3 e P4 (188, 215), cada um destes sendo provavelmente controlado por fatores parácrinos, hormonais e de desenvolvimento diferentes.

A regulação da transcrição fica ainda mais complexa quando se sabe que

somente o alelo paterno do gene de IGF-2 é normalmente expresso na maioria dos tecidos humanos e de ratos (5, 47, 63, 188, 210). Este complexo mecanismo, chamado de "impressão genômica", não está necessariamente presente em todos os tecidos normais. O plexo coróide, as leptomeninges e o fígado adulto tem expressão bialélica de IGF-2 (210). IGF-2 foi, na realidade, o primeiro "gene impresso" a ser descoberto nos mamíferos, num achado casual de De Chiara e colaboradores em 1990, durante um estudo com a intenção de elucidar a função do fator de crescimento específico-fetal (47). O relaxamento genômico da "impressão" do IGF-2, levando a sua expressão bialélica em vários tecidos, tem sido associado com o desenvolvimento de vários tumores tais como o de Wilms, neuroblastoma, tumor de mama, células germinais, ovário e outros (5, 63, 173, 211, 213, 216, 218, 220, 233).

Vogt e colaboradores observaram que períodos curtos de isquemia miocárdica causam um aumento da expressão de RNA mensageiro de IGF-2 e que este aumento é precedido por um aumento de expressão de de IGFBP-5 (216). Ao reproduzirem a situação fisiológica acima em animais de laboratório, os autores demonstraram que o IGF-2 tem uma ação protetora no miocárdio após o infarto agudo e esta ação é revertida pela IGFBP-5.

O IGF-2 é secretado in vivo pelo fígado e outros tecidos e possui ações mitogênicas e metabólicas nos locais de síntese (ação parácrina) (7, 121, 188). O IGF-2 também está presente na circulação periférica, aonde circula na sua maioria ligado à IGFBP-3 (7, 36, 37, 49, 121, 188). A proporção de IGF-2 livre na circulação é de aproximadamente 5% (36, 37, 49, 188). As ações do

IGF-2 são mediadas pela interação com receptores específicos, tipo 2, situados na membrana celular. O receptor tipo 2 é uma proteína monométrica que também funciona como receptor da manose-6-fosfato (IGF2-M6P) (7, 71). Este receptor também atua na retenção e na internalização do IGF-2 na superfície celular levando a degradação deste fator pelos lisossomas, acelerando assim, o seu metabolismo (71).

O coração e os rins, entre 32 semanas intra-útero até os dois anos de vida, são os órgãos que contém maior número de proteínas IGF-2-M6P (71, 108). O IGF-2 também se liga fracamente aos receptores tipo 1 e aos receptores de insulina, estes últimos parecendo mediar respectivamente as ações mitogênicas e metabólicas do IGF-2 (7, 49, 71, 121, 188).

Ao contrário do que tem sido demonstrado em animais, os níveis plasmáticos fetais de IGF-2 nos seres humanos são relativamente baixos e aumentam após o nascimento (10, 108, 112). Os valores plasmáticos pós-natais normais de IGF-2 são considerados valores máximos, desde que a administração de hormônio de crescimento, ao contrário do que ocorre com o IGF-1, não resulta em aumento dos níveis séricos do mesmo (111, 112, 173).

Os níveis séricos pós-natais de IGF-2 apresentam uma correlação positiva com a idade, demonstrando um aumento moderado da infância à puberdade (7, 121, 172, 188). Os níveis séricos não tem variação significativa nas 24 horas do dia (7, 188) e estão diminuídos na deficiência do hormônio de crescimento, na malnutrição, na acromegalia e durante a administração exógena de IGF-1 (7, 9, 118, 121, 172, 188, 232).

Embora sua função fisiológica não tenha sido totalmente esclarecida, tem sido postulado que a interação entre IGF-2, IGF-1, as proteínas ligadoras e os diferentes receptores celulares, modula o crescimento celular (7, 36, 37, 49, 121, 188).

2.2.3 Proteína ligadora dos fatores de crescimento semelhantes à insulina tipo-1

A IGFBP-1 é uma das seis proteínas estruturalmente relacionadas, que especificamente se ligam e modulam os peptídeos mitogênicos IGF-1 e IGF-2 (7, 36, 37). A IGFBP-1 é uma proteína hidrofóbica, não glicosilada, com peso molecular de 25.3 kda, que contém 234 aminoácidos (7, 15, 19) e é sintetizada primariamente no fígado, no endométrio uterino decidualizado e nas células granulosas do ovário (36, 37).

O gene da IGFBP-1 é organizado em 4 exons de aproximadamente 5.9 kb e é localizado no cromossoma 7 (19). A seqüência de aminoácidos contém várias regiões "Pest", isto é, regiões aonde os aminoácidos prolina, glutamina, serina e treonina são prevalentes e que normalmente estão associadas com proteínas de meia-vida intracelular curta e rápidas taxas de troca. O gene contém também uma seqüência RGD (Arginina, Glicina e Asparagina), que é uma seqüência tripeptídica, presente em várias matrizes proteicas envolvidas na união destas proteínas via receptores da família das integrinas (15, 19). Enquanto a produção de IGFBP-1 parece ser rigidamente tecido-específica,

estudos imunocitoquímicos sugerem que este peptídeo é encontrado amplamente distribuído na maioria dos tecidos (86). Estudos demonstram que a insulina regula o transporte transcapilar de IGFBP-1 (11, 12, 86). Quando os níveis de insulina se encontram elevados, os níveis de IGFBP-1 se encontram diminuídos devido a um aumento da sua saída do sistema intravascular para o intersticial. Por outro lado, quando os níveis de insulina estão diminuídos, existe uma retenção de IGFBP-1 na circulação, com conseqüente aumento nos seus níveis séricos, sugerindo que a insulina regule a distribuição tecidual de IGFBP-1. A presença da seqüência RGD sugere que a IGFBP-1 possa ligar-se a certas células específicas e que isto possa representar um mecanismo para canalizar IGFs para certos tipos de células em um determinado tecido (72, 86).

A possibilidade de que a IGFBP-1 atue como uma molécula direcionadora é reforçada pela demonstração de que em coração de ratos, a IGFBP-1 é localizada preferencialmente nos miócitos ao invés do tecido conectivo, sugerindo afinidades diferentes por células diferentes (72, 77, 86). Foi demonstrado na literatura que os níveis séricos de IGF são aproximadamente 1000 vezes maiores do que os de insulina e, que mesmo sendo a potência metabólica dos IGFs muito menor do que da insulina, se somente uma pequena proporção deste IGF fosse ativada, a contribuição seria mais significativa para o total de "ação semelhante à Insulina" do que a própria insulina (36, 37, 86, 95). Foi proposto por alguns autores (11, 86), que quando os níveis séricos de insulina são baixos, os níveis de IGFBP-1 são elevados a fim de diminuir este componente adicional de atividade "semelhante a insulina"

do IGF-1. Enquanto os níveis circulantes de IGF se mantêm relativamente estáveis, a variação rápida dos níveis IGFBP-1 torna-se um meio efetivo de modular as ações de IGF-1 de acordo com as contingências metabólicas. A IGFBP-I é encontrada em vários estados de fosforilação e é capaz de inibir ou ativar a ação de IGF-1 "in vitro" (18, 36, 37, 86).

A IGFBP-1 é distribuída no espaço intravascular e linfa (18). É encontrada também na urina em poucas quantidades (18, 36, 37). Os níveis de IGFBP-1 são altos no líquido amniótico e no feto, sofrendo um declínio gradual com a idade, atingindo os níveis mais baixos na puberdade quando os níveis de insulina começam a subir (14, 15, 18, 19).

Níveis elevados de IGFBP-1 são encontrados na gestação, insuficiência renal, desnutrição, diabetes insulino-dependente, cirrose hepática e em alguns tipos de carcinoma (36, 37, 95). No retardo de crescimento intra-uterino e em recém-nascidos pequenos para a idade gestacional, os níveis séricos de IGFBP-1 também estão relativamente elevados (14, 18). Baixos níveis de IGFBP-1 são encontrados na obesidade e estados hiperinsulinêmicos (11, 18, 86).

Os níveis séricos de IGFBP-1 descritos na literatura, em indivíduos normais adultos, variam de 10 a 100 ng/ml apresentando variação considerável em relação a alimentação, aumentando 2 a 20 vezes após uma noite de jejum e apresentando uma queda exponencial após as refeições (11, 86, 101). Os níveis séricos descritos em recém-nascidos adequados para a

idade gestacional variam entre 20 a 660 ng/ml, dependendo do local da coleta (18, 86).

Estudos indicam que estas alterações nos níveis séricos de IGFBP-1 são inversamente relacionadas à concentração sérica de insulina e não estão relacionadas com os níveis séricos do hormônio de crescimento ou com a glicemia (36, 37, 86). Os níveis séricos de IGFBP-1 na infância e na adolescência também demonstram um padrão de correlação inverso com os níveis séricos de IGF-1 e de IGFBP-3 (42). Foi demonstrado que níveis elevados de IGFBP-1 encontrados em adolescentes com diabetes insulino-dependente inibem a bio-atividade de IGF-1 na cartilagem, "in vitro", impedindo seu crescimento (12, 195). Outros trabalhos na literatura também demonstram o efeito inibitório de IGFBP-1, "in vitro", às ações tróficas de IGF-1 (86, 95).

A IGFBP-1 tem uma degradação rápida com uma meia vida de 8 a 12 minutos (15, 18, 36, 86). A degradação do RNA mensageiro de IGFBP-1 também é rápida e sua transcrição é potentemente suprimida, "in vitro", pela Insulina (11). Esta dinâmica regulatória provavelmente é responsável pela rápida queda nos níveis de IGFBP-1 após as refeições.

Embora a ação fisiológica da IGFBP-1 não esteja completamente definida, a natureza da sua regulação sugere que ela esteja envolvida na contra-regulação da glicose e na mediação da utilização do substrato pelo IGF-1 (36, 37, 86).

2.2.4 Proteína ligadora dos fatores de crescimento semelhantes à insulina tipo-3.

A IGFBP-3, a maior das IGFBP encontradas no soro pós-natal, é um peptídeo com 264 aminoácidos, com peso molecular de 53 kda e é sintetizada em vários órgãos e tecidos (7, 15, 19, 36, 37). No plasma, IGFBP-3 circula como uma proteína N-glicosilada e tem peso molecular entre 40 a 44 kda em concentrações entre 1 a 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (36). A maior parte da IGFBP-3 (80% a 90%) presente no plasma é encontrada como parte de um complexo ternário de 150 kda de peso molecular, associada com uma sub-unidade ácido-lábil (ASL) de aproximadamente 85 kda e uma molécula de IGF-1 (7, 36, 37, 121). Aproximadamente 73% do IGF-1 e IGF-2 presentes no plasma estão ligados à IGFBP-3 neste complexo ternário (7, 36, 37). Este complexo é retido na circulação, atuando muito provavelmente, como um reservatório de IGFs que necessitam estar livres para a entrada e atuação nos tecidos.

O mecanismo exato, "in vivo", da maneira como IGF-1 é liberado da IGFBP-3 não é sabido mas sabe-se que os glicosaminoglicanos, especialmente a heparina, inibem a formação do complexo IGFBP-3/ IGF-1 "in vitro" (7, 37). Enzimas proteolíticas, encontradas inicialmente no soro de mulheres grávidas e de doentes gravemente enfermos, degradam a IGFBP-3, impedindo também a formação do complexo com IGFs e aumentando sua biodisponibilidade (7, 12). A IGFBP-3, quando associada à superfície celular, tem uma afinidade menor ao IGF-I do que a IGFBP-3 solubilizada na

circulação (7, 15, 36, 37). Foi descrito que a associação de IGFBP-3 com receptores da parede celular pode estar relacionada à potenciação das ações de IGF-1 (3, 7, 42). Foi demonstrado que a preincubação de células com IGFBP-3 antes de estimulação com IGF-1, resulta em potenciação das atividades de IGF-I (7). Em contraste, a incubação celular simultânea com IGFBP-3 e IGF-I resulta na inibição das ações de IGF-I.

A concentração molar sérica de IGFBP-3 aproxima-se à soma das concentrações de IGF-1 e IGF-2. Os níveis sanguíneos são constantes durante as 24 horas do dia e aumentam gradualmente durante a infância, atingindo seu pico máximo na puberdade para depois diminuir gradualmente durante a vida adulta (36, 42).

Os níveis séricos aumentam duas vezes na acromegalia e diminuem duas a três vezes na deficiência de hormônio de crescimento, paralelo às quedas dos níveis de IGF-1 (36, 42, 121).

No nanismo de Laron, no entanto, aonde existem altos níveis de hormônio de crescimento e baixos níveis séricos de IGF-1 e IGF-2 (36, 186), os níveis séricos de IGFBP-3 também estão dramaticamente reduzidos (36, 37, 186) sugerindo que são os níveis séricos de IGF1 os importantes na determinação da produção de IGFBP-3 e não os níveis do hormônio de crescimento. Reforçando este achado, está o trabalho de Jörgensen e colaboradores no qual a infusão intravenosa contínua, por 24 horas, de hormônio de crescimento em adultos jovens com deficiência deste hormônio, provocou um aumento nos níveis séricos de IGF-I doze horas antes do

aumento correspondente dos níveis séricos de IGFBP-3 (101). Jörgesen relata que Costin e Stene não encontraram relação entre níveis de IGF-1, IGFBP-3 e os níveis de hormônio de crescimento (101). Corpas e colaboradores também não encontraram relação destes níveis em adultos jovens e idosos (42). Estes autores encontraram uma relação inversa entre os níveis de IGFBP-3- e os níveis de testosterona. Os níveis séricos de IGFBP-3 estão diminuídos em pacientes com diabetes insulino-dependente (12) e o aumento normal de IGFBP-3 durante a puberdade também está deprimido na presença de diabetes (7, 12).

3 HIPÓTESES

3.1 Hipóteses Operacionais

1 - A média do nível plasmático de IGF-I é maior nos recém-nascidos com hipertrofia cardíaca do que a média do nível plasmático de IGF-I nos recém-nascidos sem hipertrofia cardíaca, existindo uma correlação entre estes níveis e o diâmetro do septo interventricular.

2 - Não existe correlação entre o peso de nascimento e o diâmetro do septo interventricular cardíaco nos recém-nascidos.

3 - A média do valor da razão E: A mitral obtida pelo estudo ecocardiográfico com Doppler é menor nos recém-nascidos com hipertrofia do septo interventricular quando comparados com recém-nascidos sem hipertrofia septal.

4 - O tempo de desaceleração da onda E mitral obtida pelo estudo ecocardiográfico com Doppler é maior nos recém-nascidos com hipertrofia cardíaca quando comparados com recém-nascidos sem hipertrofia septal.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivos Gerais

4.1.1 Avaliar as associações entre os níveis plasmáticos dos Fatores de Crescimento Semelhantes à Insulina (IGF) e suas proteínas ligadoras (IGFBP), macrossomia e hipertrofia miocárdica em recém-nascidos de mães diabéticas.

4.1.2 Avaliar a associação entre macrossomia neonatal e hipertrofia cardíaca em recém-nascidos de mães diabéticas.

4.1.3 Avaliar a associação entre hipertrofia septal e provas ecocardiográficas de função diastólica no recém-nascido de mãe diabética.

4.2 Objetivos Específicos

4.2.1 Testar a hipótese de que existe associação entre os níveis plasmáticos de IGF-I, IGF-II e as suas proteínas ligadoras e hipertrofia cardíaca em recém-nascidos de mães diabéticas.

4.2.2 Testar a hipótese de que não existe correlação entre macrossomia neonatal isolada e hipertrofia cardíaca em recém-nascidos de mães diabéticas.

4.2.3 Testar a hipótese de que as provas de função diastólica por ecocardiografia são anormais em recém-nascidos de mães diabéticas com hipertrofia cardíaca.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Delineamento

O presente estudo teve um delineamento transversal, controlado, com coleta prospectiva de dados em um grupo de recém-nascidos (RN) assintomáticos, na primeira semana de vida.

5.2 Amostra

Foram estudados, de forma consecutiva, até a obtenção do número de pacientes pré determinado para cada grupo, 88 RN de mães não diabéticas (40 com o peso adequado para a idade gestacional, AIG, 33 com o peso grande para a idade gestacional, GIG, e 15 com peso pequeno para a idade gestacional, PIG) e 52 RN normais de mães diabéticas (34 AIG e 18 GIG), com peso adequado para a idade gestacional (AIG), num total de 140 crianças nascidas nas maternidades do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e do Hospital Nossa Senhora Conceição (HNSC), no período de março de 1993 a outubro de 1995.

5.2.1 Critérios de inclusão

Como requisito para entrada no estudo foi estabelecido que os seguintes critérios estivessem presentes de forma concomitante:

a) Maternos: Presença de cinco ou mais consultas pré-natais documentadas em prontuário ou carteira de saúde, ausência de enfermidade durante o pré-natal com exceção de diabetes gestacional.

b) Recém-nascidos: Idade gestacional > 37 semanas, índice de APGAR no quinto minuto igual ou maior que 8, estar no máximo com três horas de vida, ausência de alimentação, ser considerado normal no exame físico de admissão realizado pelo médico pediatra e ausência de cardiopatia congênita.

c) Gerais: Consentimento por escrito de algum dos pais, para a participação do recém-nascido no estudo. O termo de consentimento e a aprovação pelo comitê de ética se encontram em anexo.

5.3 Procedimentos

Os seguintes dados foram coletados dos prontuários dos RN no mesmo momento da coleta sangüínea e do exame físico: A) Dados maternos: idade, nível escolar, presença de pré-natal, presença de diabetes prévia ou desenvolvida na gestação de acordo com os critérios de O'Sullivan e Mahan, citados por Boyd e colaboradores (25), medicação ou fumo no pré-natal, tipo de parto, gestações prévias. B) Dados do recém-nascido: índice de APGAR no

primeiro e quinto minutos de vida, idade gestacional, peso de nascimento, classificação de Lubchenco (17, 105) comprimento, perímetros cefálico, torácico e abdominal, raça e sexo. A folha de coleta de dados se encontra no anexo.

A superfície corporal foi determinada utilizando-se a tabela de Herndon (em 17,105), Foram calculadas em todos os RN a razão entre os perímetros torácicos e abdominal e entre peso e comprimento.

O índice de APGAR de todos os RN foi dado pelos residentes de pediatria do HCPA ou HNSC. Todos os pacientes foram pesados e medidos pelas enfermeiras da neonatologia do HCPA ou do HNSC. Todos foram examinados e classificados quanto à idade gestacional e adequação de peso pela equipes de neonatologia das instituições acima referidas, constituída de residentes de pediatria, enfermeiras neonatais e médicos especialistas em neonatologia. A classificação do peso dos RN em relação à idade gestacional em adequado para a idade gestacional (AIG), pequeno para a idade gestacional (PIG) ou grande para a idade gestacional (GIG), foi realizada por estas equipes, baseada na curva de Lubchenco (3).

Foram coletados 1,0 ml de sangue da artéria radial de todos os RN, dentro das três primeiras horas de vida, com "butterfly" número 25, heparinizado. O sangue foi colocado em um tubo de plástico heparinizado e imediatamente centrifugado durante três minutos a 13.000 rotações por minuto. O plasma foi separado com pipeta e guardado congelado a menos 20 graus Celsius por um período de até 12 meses. Foram realizados testes de

hemoglico no local da punção em todos os pacientes, utilizando-se o método de fitas reagentes com o Haemo-Glukotest 20-800R do laboratório Boehringer-Mannheim.

A coleta de sangue, a realização do teste de hemoglico, a centrifugação, a separação e o armazenamento do plasma, o exame físico e a coleta de dados dos prontuários foram realizados pela autora do trabalho.

5.4 Análises Laboratoriais

As dosagens dos fatores de crescimento, IGF-1, IGF-2 e suas proteínas ligadoras IGFBP-1 e IGFBP-3, foram realizadas em um tempo só, em plasma descongelado, temperatura ambiente, com os Kits DSL- 5600 ACTIVE tm Insulin-like Grow Factor-1 Coated-Tube Immunoradiometric Assay (IRMA), DSL-9100 ACTIVE tm Insulin-like Grow Factor-2 Coated-Tube IRMA, DSL-7200 ACTIVE tm Insulin-like Grow Factor Binding Protein-1 Coated-Tube IRMA e DSL-10-6600 ACTIVEtm Insulin-like Grow Factor Binding Protein-3 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). Diagnostíc Systems Laboratories inc. 445 Medical Center Blvd. Webster, Texas, U.S.A, 77598.

Os valores padrão do teste de IGF1 são calibrados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e tem o código 87/518. Os valores padrão do teste de IGF2 são calibrados por uma preparação de DNA recombinado derivado de IGF2 humano. Os valores padrão do teste de IGFBP1 são calibrados com IGFBP1 humano puro, extraído do líquido amniótico e do DNA de IGFBP1

recombinado humano. Os valores padrão do teste de IGFBP3 são calibrados com DNA recombinado não glicosilado do IGFBP3 humano (peso molecular 28.75 kda) expressado pela *Escherichia Coli*, obtida pela Celtrix Pharmaceuticals, Inc.

A realização das medidas e cálculo dos resultados dos testes acima foram executadas no serviço de radioimunoensaio do HCPA conforme as normas do manual de instrução do laboratório provedor. Foi realizada uma curva padrão para cada ensaio. As medidas utilizadas na curva padrão e as medidas das amostras foram realizadas em duplicata totalizando 4 medidas por teste, para cada amostra de sangue.

O limite mínimo de detecção, calculado pela interpolação da média e dois desvios padrões de 22 tubos (11 amostras replicadas) de um padrão "0"ng/ml é 0.80 ng/ml (corrigida para uma diluição 1:30) ou 27 pg/ml (1.4 pg/tube) em concentração absoluta.

A variabilidade intra-ensaio do teste DSL-5600 ACTIVE IGF-1 IRMA foi determinada da média de 8 replicatas conforme a tabela abaixo.

Tabela 5.1 - Variabilidade intra-ensaio.

<i>Amostra</i>	<i>N</i>	<i>Média(ng/ml)</i>	<i>Desvio Padrão(ng/ml)</i>	<i>Coefficiente de variabilidade</i>
I	8	9.38	0.32	3.4%
II	8	55.35	1.64	3.0%
III	8	263.6	3.88	1.5%

A variabilidade inter-ensaio foi determinada calculando-se a média das médias de cada 8 duplicatas medidas separadamente, conforme demonstrada na tabela abaixo.

Tabela 5.2 - Variabilidade inter-ensaio.

<i>Amostra</i>	<i>N</i>	<i>Média(ng/ml)</i>	<i>Desvio Padrão(ng/ml)</i>	<i>Coefficiente de variabilidade</i>
I	8	10.41	0.85	8.2%
II	8	53.84	0.80	1.5%
III	8	255.9	9.59	3.7%

O percentual de reação cruzada do DSL-5600 ACTIVE IGF-1 IRMA foi medida em relação aos seguintes hormônios humanos, conforme demonstra a tabela abaixo:

Tabela 5.3 - Percentual de reação cruzada do teste de IGF-I.

<i>Composto</i>	<i>% Reação cruzada</i>
IGF-I	100
IGF-II	ND
Insulina	ND
Pró-insulina	ND
Hormônio de crescimento	ND

ND= Não detectada a 1 Microgr/tubo

O limite mínimo de detecção do teste DSL-9100 ACTIVE IGF-2 IRMA, calculado pela interpolação da média mais 2 desvios padrão de 20 replicatas de um padrão "0" ng/ml de IGF-2, é 15 ng/ml para uma diluição 1:96 ou 0.16 ng/ml em concentração absoluta.

A variabilidade intra-ensaio do teste DSL-9100 ACTIVE IGF-2 IRMA foi determinada da média de cada 10 replicatas, conforme está demonstrado na tabela abaixo.

Tabela 5.4 - Variabilidade intra-ensaio de teste de IGF-II.

<i>Amostra</i>	<i>N</i>	<i>Média (ng/ml)</i>	<i>Desvio padrão (ng/ml)</i>	<i>Coefficiente de variabilidade</i>
I	10	63	3	4.8%
II	10	416	30	7.2%
III	10	1585	68	4.3%

A variabilidade inter-ensaio foi determinada calculando-se a média da média de 8 duplicatas feitas separadamente conforme está demonstrado na tabela abaixo.

Tabela 5.5 - Variabilidade inter-ensaio do teste de IGF-II.

<i>Amostra</i>	<i>N</i>	<i>Média(ng/ml)</i>	<i>Desvio padrão</i>	<i>Coefficiente de variabilidade</i>
I	8	74	7	9.5%
II	8	427	27	6.3%
III	8	1295	135	10.4%

O percentual de reação cruzada do teste DSL-9100 ACTIVEtm IGF-2 IRMA foi medida nos seguintes hormônios humanos conforme demonstra a tabela abaixo.

Tabela 5.6 - Percentual de reação cruzada do teste de IGF-2.

<i>Composto</i>	<i>% Reação cruzada</i>
IGF-2	100
IGFBP-2 (2 Mc/ml)	ND
IGFBP-3 (não glicosilada) (3 Mc/ml)	ND
IGFBP-3 (glicosilada) (2.5 Mc/ml)	ND
IGFBP-4 (5 Mc/ml)	ND
IGFBP-5 (3.2 Mc/ml)	ND
Pró-insulina (2 MC/ml)	ND
Insulina (4.3 Mc/ml)	ND
Hormônio de crescimento (2 Mc/ml)	ND

ND= Não detectada, MC= micrograma

O limite mínimo detectado do teste DSL-7200 ACTIVEtm IGFBP-1 IRMA, calculado pela interpolação da média mais dois desvios padrão de 20 replicatas com um padrão "0"ng/ml IGFBP-1, é 0.11 ng/ml. A variabilidade

intra-ensaio do teste DSL-7200 ACTIVEtm IGFBP-1 IRMA, foi determinada da média de cada 12 replicatas conforme demonstrado na tabela abaixo.

Tabela 5.7 - Variabilidade intra-ensaio do teste de IGFBP-1.

<i>Amostra</i>	<i>N</i>	<i>Média (ng/ml)</i>	<i>Desvio Padrão (ng/ml)</i>	<i>Coefficiente de variabilidade</i>
I	12	10.18	0.41	4.0%
II	12	50.84	0.39	0.7%
III	12	145.39	0.97	2.0%

A variabilidade inter-ensaio do teste DSL-7200 ACTIVEtm IGFBP-1 IRMA foi determinada calculando-se a média das médias de cada 5 duplicatas feitas em separado, demonstrada na tabela abaixo.

Tabela 5.8 - Variabilidade inter-ensaio do teste de IGFBP-I.

<i>Amostra</i>	<i>N</i>	<i>Média (ng/ml)</i>	<i>Desvio padrão (ng/ml)</i>	<i>Coefficiente de variabilidade</i>
I	5	2.85	0.19	6.7%
II	5	49.72	2.65	5.3%
III	5	204.9	3.46	1.7%

A reação cruzada do teste DSL-7200 ACTIVE IGFBP-1 IRMA foi medida com os seguintes componentes abaixo demonstrados.

Tabela 5.9 - Reação cruzada do teste de IGFBP-1.

<i>Compostos</i>	<i>% De reação cruzada</i>
hIGFBP-1	100
hIGFBP-2	ND
hIGFBP-3	ND
hIGFBP-4	ND
hIGFBP-5	ND
hIGFBP-6	ND

hi= anticorpo

O limite mínimo detectado do teste DSL-10-6600 ACTIVEtm IGFBP-3 ELISA, calculado pela interpolação da média mais dois desvios padrão de 20 replicatas com um padrão "0"ng/ml I GFBP-3, é 0.04 ng/ml. A variabilidade intra-ensaio do teste DSL-10.6600 ACTIVEtm IGFBP-3 ELISA foi determinada da média de cada 15 a 16 duplicatas conforme a tabela abaixo.

Tabela 5.10 - Variabilidade intra-ensaio do teste de IGFBP-3.

<i>Amostra</i>	<i>N</i>	<i>Média (ng/ml)</i>	<i>Desvio padrão (ng/ml)</i>	<i>Coefficiente de variabilidade</i>
I	15	4.62	0.44	9.6%
II	15	27.43	2.60	9.5%
III	16	74.40	5.41	7.3%

A variabilidade inter-ensaio do teste DSL-7200 ACTIVE IGFBP-3 IRMA foi determinada calculando-se a média das médias de cada 5 duplicatas em separado, demonstrada na tabela abaixo.

Tabela 5.11 - Variabilidade inter-ensaio do teste de IGFBP-3.

<i>Amostra</i>	<i>N</i>	<i>Média (ng/ml)</i>	<i>Desvio padrão (ng/ml)</i>	<i>Coefficiente de variabilidade</i>
I	5	5.64	0.64	11.4%
II	5	25.13	2.60	10.4%
III	5	65.55	5.40	8.2%

O percentual de reação cruzada do teste DSL-10-6600tm ACTIVE IGFBP-3 ELISA foi testado nas substancias demonstradas na tabela a seguir.

Tabela 5.12 - Percentual de reação cruzada do teste de IGFBP-3.

<i>Composto</i>	<i>% de reação cruzada</i>
IGFBP-3 (500 ng/ml)	100
IGF-1 (500 ng/ml)	ND
IGF-2 (500 ng/ml)	ND
hHC (200 ng/ml)	ND
Insulina (200 ng/ml)	ND
IGFBP-1 (500 ng/ml)	ND

hHC= Anticorpo anti- hormônio de crescimento

5.5 Análise Ecocardiográfica

Ecocardiografia uni e bidimensional com mapeamento de Doppler à cores foi efetuada em todos os RN, entre os primeiros 4 a 7 dias de vida, com um Aparelho ecocardiografico Aloka SSD 680. Os estudos foram realizados com os pacientes em posição supina em condições de repouso, mas sem sedação. As imagens foram obtidas com um transdutor sectorial de 5 mHz colocado sobre o tórax dos recém-nascidos, sobre uma camada de gel para melhor contato com o corpo do paciente. Após a determinação do situs atrial, foi realizada análise seqüencial segmentar das imagens cardíacas bidimensionais, nas projeções longitudinal, transversal ao nível dos grandes vasos, transversal ao nível da válvula mitral, transversal ao nível dos músculos papilares, apical quatro câmaras, apical cinco câmaras, longitudinal subcostal, transversal subcostal e supra-esternais. Interrogação por Doppler à cores contínuo e pulsátil foi efetuada ao nível de todas as válvulas e septos intracardíacos obtendo-se medidas das velocidades máxima, velocidades média e tempos de desaceleração dos fluxos cardíacos. As medidas dos diâmetros das cavidades e das paredes ventriculares foram obtidas na projeção longitudinal em módulo M conforme a recomendação da Sociedade Americana de Ecocardiografia (192). Os diâmetros do septo interventricular e da parede posterior do ventrículo esquerdo (VE) foram medidos em diástole, no pico da onda R do eletrocardiograma. O diâmetro sistólico da cavidade ventricular esquerda, foi medida no final da onda T do eletrocardiograma e o

diâmetro diastólico no pico da onda R. As medidas de 30 pacientes foram realizadas por dois observadores diferentes e o coeficiente de variabilidade entre os mesmos, em relação às medidas dos diâmetros das paredes ventriculares foi calculada. Foram calculadas as frações de encurtamento e ejeção de VE conforme a fórmulas estabelecida por Pombo e colaboradores e Benzig e colaboradores descritas por Feingenbaun (67). A massa cardíaca foi calculada conforme fórmula estabelecida por Deveraux e colaboradores (53).

Foi considerado como ponte de corte para hipertrofia cardíaca um diâmetro septal com valores maiores que dois desvios padrão acima da média.

5.6 Análise Estatística

Um banco de dados foi gerado no programa Excel 4, versão 4.0 e analisado no pacote estatístico SPSS versão 6.0. O cálculo do “N” da amostra foi realizado considerando-se uma incidência de 30% de hipertrofia cardíaca nos RN de mães diabéticas, encontrado em estudos prévios por Zielinsky e colaboradores (235,236). Na análise descritiva, foram fornecidas as freqüências e as médias \pm desvio padrão das variáveis de interesse nos diferentes grupos e mediana, mínimo e máximo quando necessário. Nas análises bivariadas foi considerado como nível de significância um valor alfa igual a 0,05. A análise dos dados incluiu técnicas estatísticas com testes paramétricos e não paramétricos. As variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste de χ^2 e exato de Fisher quando necessário e as variáveis contínuas

pelo teste t de Student. As variáveis contínuas, quando estudadas em três ou mais grupos, foram comparadas através de uma análise de variância (ANOVA). As variáveis IGF-2, IGF-II, IGFBP-I e IGFBP-3 que apresentaram distribuição não normal, foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Quando ocorreram diferenças tanto na ANOVA quanto no teste de Kruskal-Wallis, foram utilizados testes de comparações múltiplas; teste de Tuckey e teste não paramétrico de diferenças mínimas significativas, respectivamente.

Com a finalidade de estudar a associação entre as variáveis de interesse, foi realizada análise de correlação através do cálculo do coeficiente de correlação de Pearson e de Spearman.

Para determinar o efeito de potenciais fatores de confusão na relação entre os fatores de crescimento e o tamanho do septo interventricular, foi utilizado um modelo de regressão linear múltipla. As variáveis incluídas além dos IGFs (fator em estudo) e do tamanho do septo interventricular (desfecho) foram diabetes gestacional, uso materno de insulina, IGFBPs, peso de nascimento e glicemia.

O intervalo de confiança de 95% para os coeficientes lineares, foi apresentado.

5.7 Aspectos Éticos

Este estudo foi aprovado pelos comitês de ética em pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e

do Hospital Nossa Senhora Conceição. Os pacientes só participaram do trabalho após a assinatura, por um dos pais, do termo de consentimento.

6 RESULTADOS

6.1 Características Gerais da Amostra

Um total de 140 crianças foram recrutadas, após o consentimento por escrito de um dos pais. Todas foram examinadas e tiveram 1 ml de sangue coletado nas primeiras três horas de vida. Destas, somente 111 (79%) voltaram para fazer ecocardiografia uni e bidimensional com Doppler a cores. Das 140 amostras de sangue inicialmente coletadas, somente 90 amostras (64,3%), escolhidas de maneira aleatória entre os pacientes que fizeram ecocardiografia, foram utilizadas para as dosagens de IGF-1, IGF-2, IGFBP-1, IGFBP-3 devido à disponibilidade dos "Kits". Os níveis de glicose foram aferidos pelo haemigliko teste em todos os 140 pacientes. O exame físico foi considerado normal em todos os pacientes. Não foi encontrada hepatomegalia em nenhum recém-nascido.

Os pacientes foram inicialmente divididos em três grupos quanto ao peso. Grupo I: recém-nascidos adequados para a idade gestacional (AIG), grupo II: RN grandes para a idade gestacional (GIG) e grupo III: RN pequenos para a idade gestacional (PIG).

O grupo I teve um total de 61 pacientes, 26 (42%) do sexo masculino e 35 do feminino. Vinte e oito destes pacientes (46%) eram filhos de mães diabéticas.

O grupo II teve um total de 40 pacientes, 25 do sexo masculino e 15 do feminino. Dezesesseis destes pacientes (36%) eram filhos de mães diabéticas.

O grupo III teve um total de 10 pacientes, 4 (40%) do sexo masculino e 6 do feminino. Neste grupo não foi encontrado nenhum recém-nascido de mãe diabética.

No total da amostra estudada, 44 recém-nascidos eram filhos de mães diabéticas (28 AIG e 16 GIG). Entre as mães diabéticas, 19 (43%) fizeram tratamento com insulina e o restante (57%) com dieta. No grupo I, 40 crianças nasceram de parto normal (65,5%) e 21 de parto cesárea, Dentre os 21 que nasceram por cesareana 18 (86%) eram filhos de mães diabéticas. No grupo II, 21 crianças (52,5%) nasceram de parto normal e 19 de parto cesárea. Entre os nascidos de parto cesárea, 11 (61%) eram filhos de mães diabéticas. No grupo III, 8 (80%) das crianças nasceram de parto cesárea e 2 de parto normal. No total da amostra, 48 crianças (43%) nasceram por cesariana.

Não houve diferença quanto à idade gestacional, número prévio de gestações e idade materna nos três grupos.

A tabela abaixo descreve as características demográficas contínuas nos diferentes grupos.

Tabela 6.1 - Comparação das variáveis demográficas contínuas nos diferentes grupos, pela análise de variância.

Variável	AIG	GIG	PIG	p
Peso (kg) Média	3,11 (b)	4,07 (c)	2,08 (a)	<0,001
DP(±)	0,35	0,29	0,17	
Sup.corp (m2) Média	0,21 (b)	0,24 (c)	0,16 (a)	<0,001
DP(±)	0,01	0,01	0,006	
Idade gest. (sem) Média	39,0	39,6	39,5	NS
DP(±)	1,3	0,9	1,18	
Idade mat. (anos) Média	26,8	29,3	29,5	NS
DP(±)	5,9	5,2	9,9	
Paridade Média	2,1	2,6	3,1	NS
DP(±)	1,1	1,1	2,7	

Sup. corp= Superfície corporal, Gest=gestacional. Mat= materna

Os índices a, b, c representam a localização através do teste de comparações múltiplas após ANOVA (teste de Tuckey).

6.2 Achados Ecocardiográficos

A variabilidade inter-observador do teste ecocardiográfico, módulo-M, testado em 30 pacientes por dois observadores diferentes foi de 3,2%. A

variabilidade intra-observador foi de 1,8%. A variabilidade inter-observador para o teste de Doppler foi 0,96% e a variabilidade intra-observador foi 0,48%.

Entre os achados ecocardiográficos, hipertrofia septal foi encontrada em 7(11%) pacientes do grupo I (AIG) e em 11 (27,5%) pacientes do grupo II (GIG). Dentre os primeiros, todos os 7 RN eram filhos de mães diabéticas e dentre o grupo II, nove entre os 11 (82%) eram filhos de mães diabéticas. Os pacientes do grupo três (PIG) não apresentaram hipertrofia septal. Os diâmetros do septo interventricular e da parede posterior do Ventrículo esquerdo foram, significativamente maiores no grupo dos recém-nascidos do grupo II em relação aos dois grupos.

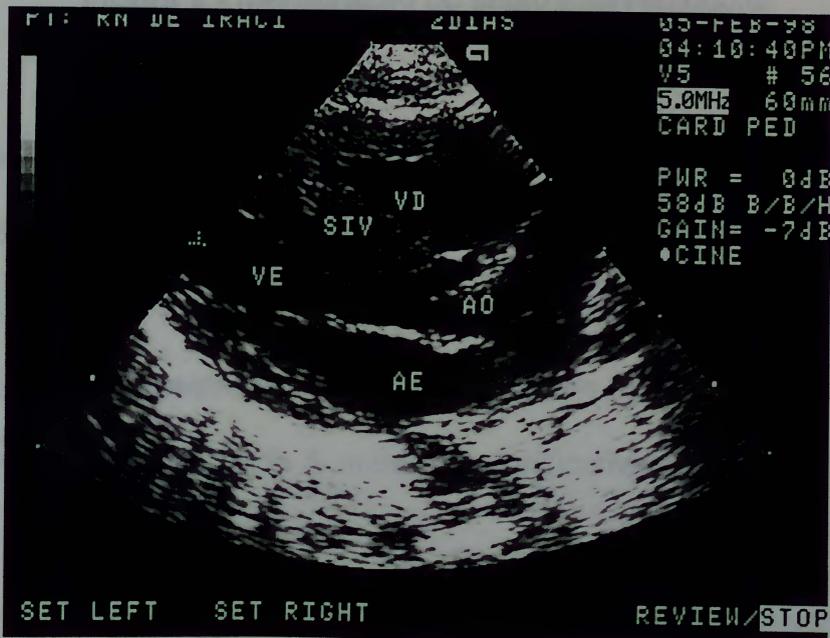


Figura 1 - Imagem ecocardiográfica bidimensional de hipertrofia septal

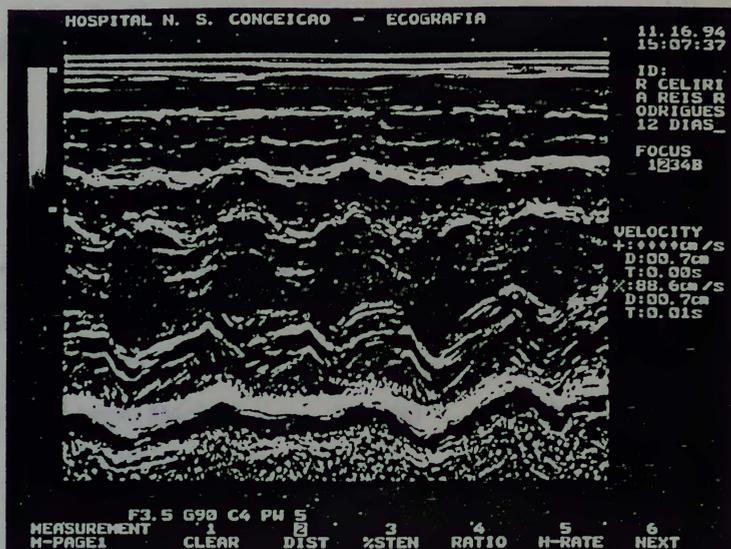


Figura 2 - Mensuração do septo interventricular

A massa do ventrículo esquerdo, mesmo dividida pela superfície corporal ainda foi significativamente maior no grupo II (GIG). As médias das velocidades das ondas E mitral e tricúspide e da onda A tricúspide, foram significativamente menores nos recém-nascidos do grupo III (PIG) em relação aos dois grupos. A média da velocidade da onda A mitral foi significativamente maior no grupo I (AIG).

Os valores médios da razão E:A mitral e tricuspídea, assim como os tempos de desaceleração foram iguais entre os três grupos.

A tabela 6.2 apresenta os dados ecocardiográficos encontrados nos diferentes grupos.

Tabela 6.2 - Análise da comparação dos valores das variáveis ecocardiográficas com Doppler nos diferentes grupos, pelo teste de ANOVA

Variável	AIG	GIG	PIG	p
Septo IV(mm) Média	3,72 (a)	4,68 (b)	3,2 (a)	<0,001
DP(±)	1,01	1,33	0,42	
PPVE (mm) Média	3,36 (a)	4,02 (b)	3,00 (a)	<0,001
DP(±)	0,75	1,05	0,00	
S/PPVE Média	1,1	1,14	1,06	0,36
DP(±)	0,17	0,19	0,14	
Massa VE (gr) Média	9,94 (b)	12,87 (c)	5,49 (a)	<0,001
DP(±)	3,60	4,18	1,50	
MassaVE/SC(gr/m2) Média	45,39 (a)	51,68 (b)	34,11 (a)	0,004
DP(±)	14,54	17,16	8,87	
Onda E mitral (mm) Média	0,63 (b)	0,60 (b)	0,48 (a)	0,003
DP(±)	0,15	0,08	0,09	
Onda A mitral (mm) Média	0,61 (b)	0,56 (a)	0,46 (a)	0,003
DP(±)	0,16	0,09	0,04	
Onda E tricúspide (mm) Média	0,55 (b)	0,52 (b)	0,42 (a)	0,001
DP(±)	0,11	0,10	0,53	
Onda A tricúspide(mm) Média	0,61 (b)	0,61 (b)	0,50 (a)	0,005
DP(±)	0,10	0,09	0,06	
E : A mitral Média	1,04	1,10	1,03	0,06
DP(±)	0,12	0,14	0,10	
E : A tricúspide Média	0,91	0,85	0,85	0,04
DP(±)	0,12	0,13	0,07	
TD mitral (ms) Média	29	30	27	0,12
PD(±)	6	4	7	
TD tricúspide (ms) Média	28	30	28	0,11
DP(±)	7	6	6	

IV= interventricular. VE= ventrículo esquerdo.
Sc= superfície corporal. PP= parede posterior.
S= septo. TD tempo de desaceleração

Os índices a,b,c representam a localização através do teste de comparações múltiplas após ANOVA (teste de Tuckey) ou Kruskal-Wallis (teste de diferenças mínimas significativas).

6.3 Achados da análise sangüínea

Os valores médios de IGF-1 foram significativamente diferentes entre os três grupos. Os valores médios aumentaram de acordo com o peso de nascimento, não diferindo dos achados existentes na literatura. No grupo II (GIG) o valor foi 42,59 ng/ml, no grupo I (AIG) 24,3 ng/ml e no grupo III (PIG) 8,2 ng/ml. Os valores médios de IGFBP-1 demonstraram um comportamento inverso ao de IGF-1, foram estatisticamente menores no grupo II. Os valores médios de IGFBP-3 por outro lado, acompanharam as variações de IGF-1, mostrando-se significativamente menores no grupo III e maiores no grupo II. Os níveis de glicose não foram diferentes entre os três grupos. Os dados da análise sangüínea estão demonstrados na tabela abaixo.

Tabela 6.3 - Comparação dos dados da análise sangüínea entre os diferentes grupos pelo teste de ANOVA.

Variável	AIG	GIG	PIG	p
IGF-1 Média	24,5 (b)	42,59 (c)	8,2 (a)	<0,001
DP(±)	15,4	21,5	4,02	
IGF-2 Média	595,02	579,68	562,60	0,92
DP(±)	267,20	246,22	212,14	
IGFBP-1 Média	224,73 (b)	168,89 (a)	256 (b)	0,008
DP(±)	98,08	93,89	61,67	
IGFBP-3 Média	641,88 (b)	754,34 (c)	399,10 (a)	<0,001
DP(±)	155,9	207,35	202,49	
Glicose Média	72,78	70,25	72,00	0,890
DP(±)	26,53	23,58	31,19	

IGF = Fatores de crescimento semelhantes à insulina.

IGFBP= Proteínas ligadoras de IFG

Os índices a, b, c representam a localização através do teste de comparações múltiplas após ANOVA (teste de Tuckey) ou Kruskal-Wallis (teste de diferenças mínimas significativas).

6.4 Relações Entre Hipertrofia Septal e as Diferentes Variáveis

Os paciente estudados foram divididos em dois grupos a fim de testar as hipóteses iniciais. Todas as variáveis independentes foram testadas contra a variável dependente, no caso, hipertrofia septal. Foi considerada hipertrofia septal um diâmetro septal maior do que 5 mm, que representa um valor maior do que dois desvios padrões acima da média dos recém-nascidos AIG, filhos de mães não diabéticas. O grupo I, dos RN sem hipertrofia septal, foi constituído pelos recém-nascidos com a espessura do septo interventricular (SIV) menor ou igual a 5mm e o grupo II, dos RN com hipertrofia septal, foi constituído pelos recém-nascidos com SIV maior do que 5 mm.

Os dados obtidos com a análise bivariada em relação à espessura do septo interventricular, descritos na tabela abaixo, demonstram que as médias do peso de nascimento, da superfície corporal, da idade materna, da massa do VE, da massa do VE indexada pela superfície corporal, da parede posterior do VE, da relação do diâmetro do septo com a parede posterior do VE e dos níveis plasmáticos de IGF-1 são estatisticamente maiores nos recém-nascidos do grupo II(septo >5mm). Não houve diferença entre os dois grupos quanto à idade gestacional, a média dos valores de glicose, IGF-2, IGFBP-1 e IGFBP-3. A análise das variáveis obtidas pela ecocardiografia com Doppler, tais quais razão E:A mitral e tricúspide e o tempo de desaceleração mitral e tricúspide, também não foram estatisticamente diferentes entre os dois grupos.

Tabela 6.4 - Comparação entre os valores médios das variáveis de interesse e o diâmetro do septo interventricular, pela análise bivariada.

Variável	Septo ≤5	Septo >5	p
Idade gestacional	39,27 ± 1,28	39,13 ± 1,04	0,667
Peso (Kg)	3,29 ± 0,64	4,07 ± 0,67	<0,001
SC (m2).	0,21 ± 0,02	0,24 ± 0,025	0,001
Idade materna	27,12 ± 6,26	32,44 ± 4,27	0,001
Massa VE (gr)	9,36 ± 2,98	16,98 ± 4,03	<0,001
Massa/SC (gr/m2)	41,91 ± 9,90	71,11 ± 18,03	<0,001
PPVE (mm)	3,32 ± 0,59	4,83 ± 1,2	<0,001
S/PPVE	1,09 ± 0,16	1,27 ± 0,19	<0,001
E : A mitral	1,07 ± 0,14	1,02 ± 0,08	0,18
E : A tricúspide	0,89 ± 0,11	0,84 ± 0,16	0,12
TD mitral (ms)	27 ± 7	29 ± 5	0,566
TD tricúspide (ms)	28 ± 7	29 ± 4	0,822
Glicose (mg/ml)	73,11 ± 27,14	65 ± 15,43	0,222
IGF-1(ng/ml)	21,10 (1,90 - 81,90)	41,95 (23,4 - 109,20)	<0,001
IGF-2(ng/ml)	584,00 (125,00 -1095,00)	535,50 (284,00 - 921,00)	0,866
IGFBP-1(ng/ml)	217,00 (11,90 - 420,00)	153,50 (20,70 - 330,00)	0,038
IGFBP-3(ng/ml)	630 (210,00 - 1518,00)	737,50 (467,00 - 1118,00)	0,056

Sc= Superfície corporal; VE= Ventrículo esquerdo; PP= Parede posterior

E = Onda E (Doppler); A= Onda A(Doppler)

IGF= Fatores de crescimento semelhantes à insulina; BP= Proteínas ligantes

TD= Tempo de desaceleração.

As medidas representam Média ± Desvio Padrão ou Mediana (Mínimo e Máximo).

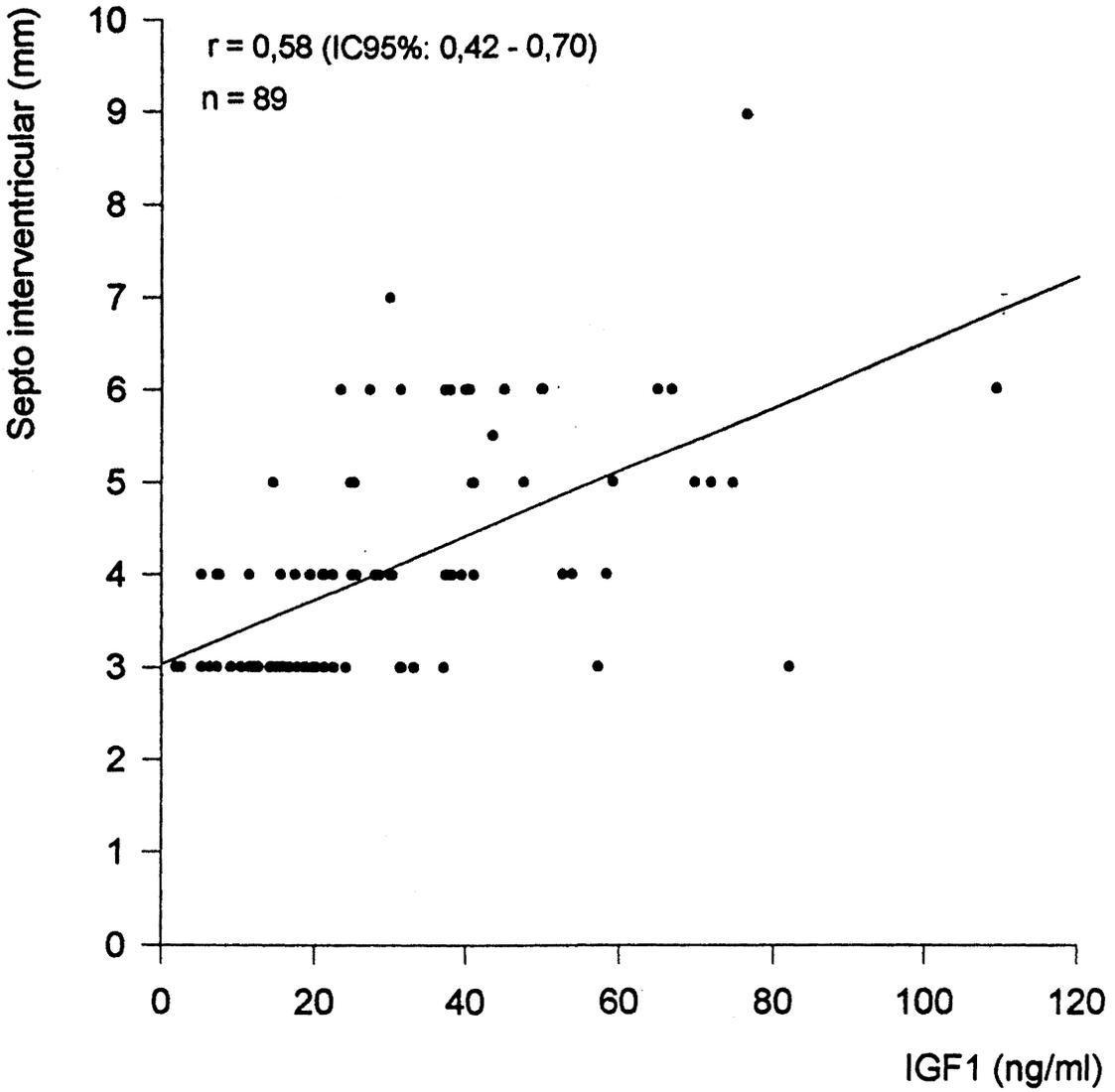


Figura 1: Gráfico de correlação entre níveis de IGF1 e diâmetro septal

A análise dos dados pela correlação de Pearson demonstrou que existe associação estatisticamente significativa entre hipertrofia do septo interventricular e níveis plasmáticos de IGF-1, IGFBP-3, presença de diabetes materna, peso de nascimento e o uso de insulina pela mãe. Demonstrou também que existe associação entre os níveis médios plasmáticos de IGF-1, IGFBP-3 e o peso de nascimento. Os níveis plasmáticos médios de IGFBP-1 tiveram uma correlação negativa com os níveis de IGF-1. O uso de insulina tem associação com diabetes materna, já que somente as mães diabéticas fizeram uso de insulina. Os dados da análise de correlação estão na tabela 6.5.

Tabela 6.5 - Matriz de Correlação (coeficientes de Pearson) entre as variáveis de interesse estudadas.

	Septo	IGF-1	IGF-2	IGFBP-1	IGFBP-3	DG	Peso	Glicose	Insulina
Septo	1,00 (111) p=								
IGF-1	0,57 (89) p=0,000*	1,00 (89)							
IGF-2	-0,01 (89) p=0,93	0,00 (88) p=	1,00 (89)						
IGFBP-1	-0,23 (89) p=0,03	-0,40 (88) p=0,000*	-0,15 (89) p=0,15	1,00 (89) p=					
IGFBP-3	0,35 (89) p=0,001*	0,57 (88) p=0,000*	0,21 (89) p=0,04	-0,01 (89) p=0,35	1,00 (89) p=				
DG	0,43 (111) p=0,000*	0,01 (89) p=0,90	0,22 (89) p=0,03	-0,12 (89) p=0,23	0,09 (89) p=0,39	1,00 (111) p=			
Peso	0,48 (111) p=0,000*	0,55 (89) p=0,000*	0,08 (89) p=0,006	-0,29 (89) p=0,006	0,51 (89) p=0,000*	0,19 (111) p=0,04	1,00 (111) p=		
Glicose	-0,13 (111) p=0,17	-0,11 (89) p=0,28	0,22 (89) p=0,03	0,06 (89) p=0,57	0,12 (89) p=0,25	-0,15 (111) p=0,11	0,02 (111) p=0,84	1,00 (111) p=	
Insulina	0,31 (111) p=0,001*	0,18 (89) p=0,09	0,14 (89) p=0,18	-0,1 (89) p=0,36	0,16 (89) p=0,12	0,56 (111) p=0,000*	0,16 (111) p=0,09	-0,09 (111) p=0,31	1,00 (111) p=

* = $p < 0,01$; DG= Diabetes gestacional, IGF= Fator de crescimento semelhante a insulina, BP= Proteína ligante

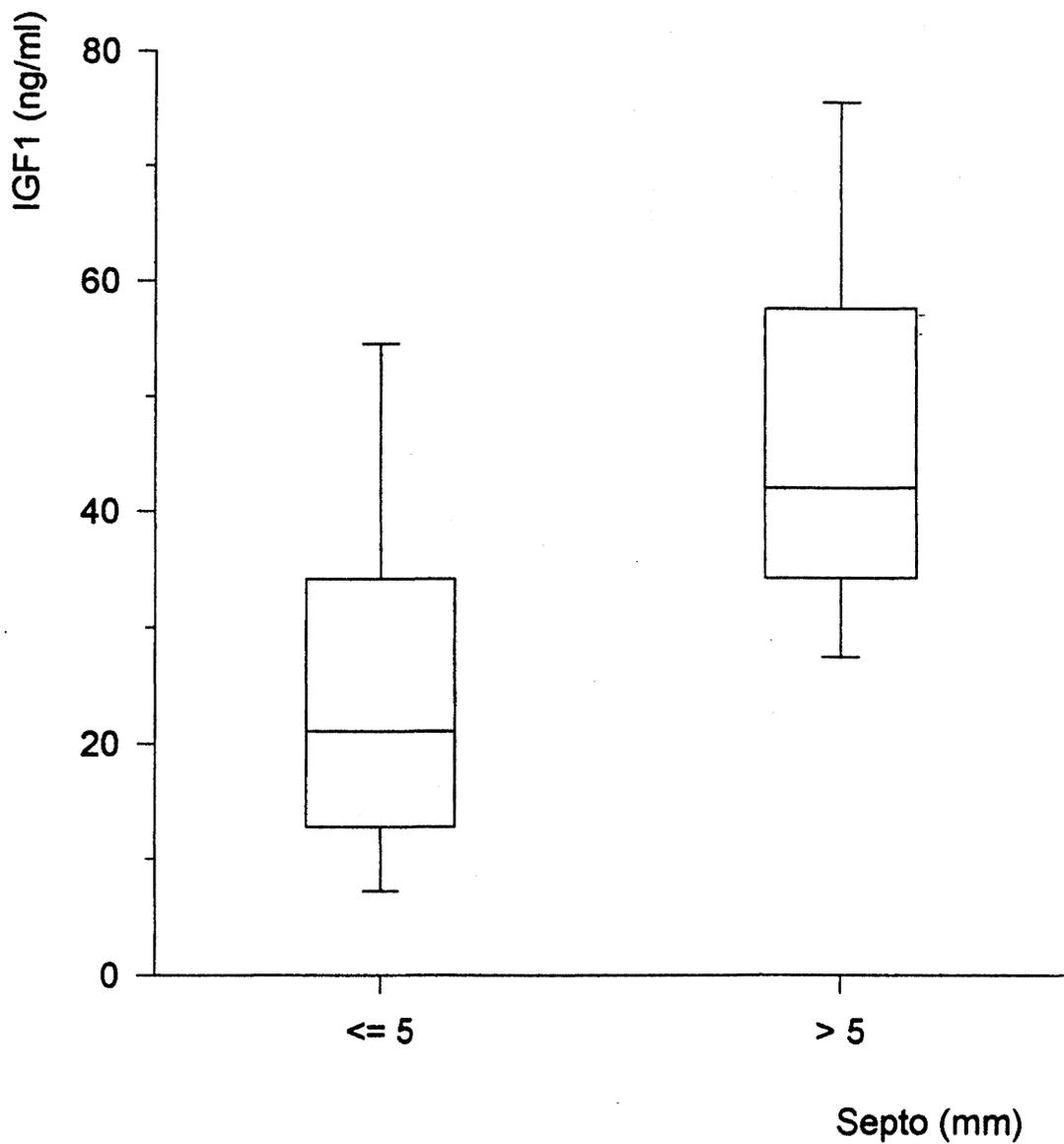


Figura 2 – Box plot representando os níveis de IGF1 entre pacientes com ou sem hipertrofia septal.

Com a finalidade de determinar a contribuição relativa de cada uma das variáveis de interesse, para o aumento do tamanho do septo interventricular e eliminar os possíveis fatores de confusão e distorções foi realizado um teste de regressão linear múltipla que demonstrou que para cada aumento de 10 unidades de IGF-1 existe um aumento na espessura do septo interventricular de 0,4 mm. A presença de diabetes na mãe acarreta um aumento de até 1,16 mm no diâmetro septal. A análise demonstrou que para cada aumento de cem gramas no peso de nascimento o diâmetro do septo interventricular só aumenta 0,005 mm. Portanto, conforme demonstra a tabela abaixo, após controlar para as outras variáveis que demonstraram significância estatística na análise dos dados pela correlação de Pearson, somente os níveis de IGF-1 e diabetes materna demonstraram associação significativa com a espessura do septo interventricular e conseqüentemente com a hipertrofia transitória do septo interventricular no recém-nascido na análise de regressão linear múltipla.

Tabela 6.6 - Resultado da análise de regressão linear múltipla das variáveis de interesse com a espessura do septo interventricular.

Variável	Coefficiente B	I C 95%	p
Diabete gestacional	1,1651	0,7215 - 16087	< 0,0001*
IGF-1	0,0399	0,0268 - 0,0530	<0,0001*
IGF-2	-0,0005	-0,0012 - 0,0002	0,1716
Insulina	0,3767	-0,2223 - 0,9757	0,2144
IGFBP-1	0,0011	-0,0009 - 0,0031	0,2654
IGFBP-3	-0,0004	-0,0015 - 0,0008	0,5086
Peso(gr)	0,00005	-0,2581 - 0,3703	0,7233
Glicemia	- 0,0008	-0,0080 - 0,0063	0,8194

Constante = 2,6394

*= $p < 0,01$

IGF= Fator de crescimento semelhante à insulina

IGBP= Proteína Ligadora de IGF

7 DISCUSSÃO

7.1 Fatores de Crescimento Semelhantes à Insulina

A hipertrofia cardíaca tem sido amplamente estudada em animais e seres humanos. O mecanismo celular da hipertrofia, a fisiopatologia dos estímulos extracelulares, os fatores genéticos e o provável papel dos fatores de crescimento tem sido amplamente abordados na literatura.

Era crença geral, até 1991, que a hipertrofia miocárdica em adultos acontecia com o aumento do tamanho das células musculares pré-existentes sem proliferação celular.

Marino e colaboradores demonstraram (130), no entanto, que o RNA mensageiro do antígeno nuclear das células em proliferação (PCNA) tem expressão tanto nas células miocíticas cardíacas fetais como nas células adultas totalmente diferenciadas de ratos de laboratório. Os autores demonstraram, nestes animais, que a transcrição do PCNA está ligada à divisão mitótica miocárdica, tanto no período pré-natal como no perinatal. Este trabalho proporcionou a primeira evidência molecular que os miócitos cardíacos possuem a capacidade de expressar este gene, importante para a replicação do DNA, no período pré-natal e em todos os estágios da vida pós-

natal. Em outras palavras: os miócitos cardíacos tem a capacidade de se reproduzir e ou se auto-replicar perante um estímulo e esta capacidade se estende até a vida adulta. O estímulo desencadeante do crescimento exagerado do miocárdio em recém-nascidos de mães diabéticas ainda tem uma origem obscura.

D'Ercole, durante a 93^a conferência patrocinada pela Ross, sugeriu em 1987 que "embora não existam estudos em filhos de mães diabéticas, pode-se erguer uma hipótese razoável da implicação das somatomedinas (IGF-1) na hipertrofia cardíaca destes recém nascidos" (182).

A hipertrofia cardíaca é a principal resposta adaptativa do músculo cardíaco a qualquer tipo de excesso de carga, incluindo hipertensão, infarto do miocárdio, anemia crônica, doença valvular e miocardiopatia dilatada (28,53,70,74,93). Estes fatores, no entanto, não estão normalmente presentes nos recém-nascidos de mães diabéticas, que apresentam hipertrofia transitória das paredes ventriculares, assim como não estão presentes fatores genéticos ou doenças de depósito sabidamente responsáveis por hipertrofia cardíaca, sugerindo que esta entidade seja única, com características próprias e etiologia ainda não bem definida.

O mecanismo exato que transforma o estímulo mecânico de um aumento de pressão ou volume em resposta hipertrófica celular ainda não é conhecido. Da mesma forma como não é conhecido o mecanismo exato pelo qual um estímulo metabólico, como a diabetes gestacional, poderia levar a uma resposta hipertrófica miocárdica no feto. Como já descrito, existem várias

hipóteses ainda não totalmente comprovadas quanto à etiologia deste crescimento excessivo das paredes ventriculares nestes recém-nascidos. Apesar da presença de vários trabalhos demonstrando a participação dos fatores de crescimento na hipertrofia cardíaca secundária a estímulos mecânicos (4, 27, 32, 34, 44, 55, 64, 70, 82, 97), além da sugestão de D'Ercole há dez anos atrás, não há registro na literatura médica internacional, de estudos associando a presença de miocardiopatia hipertrófica transitória no recém-nascido, encontrada geralmente em filhos de mães diabéticas e níveis plasmáticos de IGF-1.

O presente estudo, após controlar para os possíveis fatores de confusão conhecidos na literatura, como peso de nascimento, glicemia e diabetes materna, demonstrou pela primeira vez portanto, que existe uma associação entre os níveis plasmáticos de IGF-1 e hipertrofia do septo interventricular em recém-nascidos assintomáticos de mães diabéticas.

Devido aos efeitos conhecidos de variáveis fisiológicas tais quais idade, sexo e estado nutricional na regulação dos níveis plasmáticos de IGF-1, este trabalho foi realizado em uma amostra coletada de uma maneira aleatória, contendo aproximadamente o mesmo número de bebês do sexo masculino e do feminino. As amostras sanguíneas foram coletadas nas primeiras horas de vida para evitar que tempos diferentes de vida fora do útero e a presença de alimentação pudessem interferir nos níveis de IGF-I. Nenhum recém-nascido recebeu alimentação antes da coleta sanguínea. Os níveis de glicose também foram aferidos, já que ela pode ser a principal reguladora dos níveis de IGF-1

nos fetos de alguns animais (160). O sangue foi centrifugado logo após a coleta e o plasma separado, para evitar que a glicose fosse consumida pelos eritrócitos e indiretamente influísse nos níveis de IGF. Para evitar as variabilidades intrínsecas de cada doença e suas possíveis influências nos níveis dos fatores de crescimento e na hipertrofia cardíaca, o estudo foi realizado em recém-nascidos assintomáticos provenientes de mães sem outras alterações além de diabetes.

Vários trabalhos na literatura reforçam os achados deste estudo, ao afirmar que os fatores de crescimento semelhantes à insulina são capazes de estimular uma variedade de processos metabólicos e mitogênicos de crescimento e proliferação celular em vários tecidos, incluindo o cardíaco (4, 17, 27, 30, 31, 38, 44, 54, 55, 61, 97, 106, 111, 112, 117, 118, 134, 162, 177, 178, 219). Também demonstram que a insulina tem ação reguladora nos níveis de IGF-1 (39, 40, 86, 160) e na distribuição suas proteínas ligantes (7, 11, 37). A insulina "in vitro" aumenta os níveis de RNAmensageiro de IGF-1 nos hepatócitos isolados de ratos (8). No rato normal insulina tem ação sinérgica com o hormônio de crescimento na regulação dos genes que expressam IGF-1 (8).

Oliver e colaboradores (160) demonstraram em fetos de ovelhas que a glicose isoladamente, e não aminoácidos ou outros substratos maternos, tem um importante papel regulador nos níveis de IGF-1 circulante. Os autores sugerem que este efeito da glicose nos níveis de IGF-1 é indireto e mediado pela insulina, já que foi demonstrado que hiperinsulinemia fetal leva a um

aumento do IGF-1 fetal e que a pancreatectomia em fetos resulta em níveis baixos de insulina e de IGF-1 mesmo não sendo o IGF-1 produzido exclusivamente pelo pâncreas.

A insulina é a maior determinante dos níveis séricos de IGFBP-1 (7, 8). Vários estudos "in vitro" estabeleceram que a interação entre o receptor de IGF-1(IGF-1R) e o IGF-1, facilitada por IGFBP-1, é essencial na indução da proliferação de vários grupos celulares (37, 176, 177, 178). Pietrzkowski e colaboradores (167) demonstraram em 1992, que células que produzem mais IGF-1 e IGF-1R são capazes de crescer em um meio completamente ausente de soro, sem adição de nenhum outro fator exógeno de crescimento. Vários autores demonstraram, "in vitro", em diferentes tipos de tecido e linhagens celulares, que a expressão de IGF-1R está associada com a síntese de DNA e a proliferação celular (177). Ito e colaboradores (97) demonstraram, "in vivo", que existe uma concentração alta de IGF-1R no coração e que o número é maior nos miócitos cardíacos do que nas células intersticiais.

Reiss e colaboradores (178), em 1994, demonstraram, que após o infarto miocárdico provocado em ratos adultos de laboratório, houve um aumento de 3,9 vezes no RNA mensageiro de PCNA nos miócitos do ventrículo esquerdo e de 2,4 vezes nos do ventrículo direito. Ao mesmo tempo, houve um aumento de 2 vezes no RNA mensageiro de IGF-1R nos dois ventrículos e de 4,3 vezes no de RNA mensageiro de IGF-1. Os autores sugerem, que a expressão elevada de IGF-1 e seu receptor nos miócitos cardíacos, numa situação de

tensão após o infarto do miocárdio, ativa os genes essenciais para a síntese de DNA, afetando o crescimento miocárdico.

Glennon e colaboradores (78) dividem os eventos que levam a hipertrofia cardíaca a nível celular em três estágios: estímulos hipertróficos extracelulares, sinal de transdução intracelular e ativação de eventos nucleares que permitem o desenvolvimento fenotípico da hipertrofia cardíaca. No primeiro dos três estágios da transdução foi demonstrado que os fatores de crescimento IGF-1 e fibroblástico ligam-se a receptores que possuem atividade enzimática (tirosina-quinase), iniciando uma cascata sinalizadora. Esta inclui oncoproteínas que, interagindo com outras duas vias metabólicas, vão modular a atividade transcricional de proteínas musculares. Os autores são categóricos ao afirmar que o IGF-1 e o fator de crescimento fibroblástico induzem hipertrofia nos miócitos cardíacos. Foi demonstrado que concentrações muito pequenas de IGF-1 podem estimular a formação de miotúbulos das células musculares e que concentrações maiores podem estimular a proliferação destas células (182).

Na ausência de atividade elétrica, as fibras musculares, os miócitos e a inervação muscular apresentam reações características dirigidas a restaurar a função do sistema neuromuscular e a evitar efeitos degenerativos. Nos músculos parcialmente denervados, estas reações incluem proliferação das células intersticiais musculares, seguida pela germinação das terminações nervosas (30, 31).

Caroni e colaboradores, provocando uma situação semelhante ao retirar a inervação das fibras musculares esqueléticas de ratos de laboratório, demonstraram que a produção elevada de IGF-1 é uma das primeiras reações celulares à denervação muscular esquelética, indicando que os IGFs musculares são necessárias para a indução da proliferação das células intersticiais intramusculares (30,31). Edwall e colaboradores (61), demonstraram que o IGF-1 RNA mensageiro acumula nos músculos esqueléticos induzidos a hipertrofia por um aumento de carga, sugerindo que o IGF-1 possa participar no processo de remodelagem dinâmica de todos os músculos estriados.

Engelman e colaboradores (64) demonstraram que o IGF-1 influencia o crescimento e a diferenciação celular nos corações de fetos e de recém-nascidos de ratos de laboratório. Os autores observaram que o IGF-1 e o IGF-2 são expressados no coração normal em desenvolvimento durante o estágio de maturação (estágio pós-cinético com aumento do tamanho celular, ou seja, hipertrofia) e binucleação celular. Neste mesmo estudo, foram encontrados níveis maiores de IGF-1 RNA mensageiro nas fibras miocárdicas do ventrículo esquerdo de ratos com predisposição genética para hipertensão em comparação com os controles.

Wählander e colaboradores (219), demonstraram que a hipertensão precoce, causada por clampeamento das artérias renais em ratos de laboratório, resultou em um aumento dos níveis de RNA mensageiro de IGF-1 e de IGF-1 no ventrículo esquerdo, concomitante com o aumento da massa

ventricular. Estes fatores não se elevaram no ventrículo direito. O RNA mensageiro de IGF-I voltou aos níveis basais 7 dias após o clampeamento das artérias, a despeito da persistência da hipertensão. Os níveis da proteína IGF-I, no entanto, se mantiveram elevados e praticamente confinados às camadas subendocárdicas, aonde a tensão da parede é sabidamente mais elevada. Este estudo demonstrou a capacidade do miocárdio de produzir, por si só, uma molécula com propriedades tróficas em resposta direta a um estímulo mecânico.

Donohue e colaboradores (55) corroboraram os achados anteriores, em um estudo com animais de laboratório, utilizando três modelos diferentes de hipertensão, que se consistiram de constrição aórtica, nefrectomia unilateral e nefrectomia unilateral mais deoxocorticoesteróides. Os autores encontraram um aumento significativo no conteúdo ventricular esquerdo de IGF-I mRNA e IGF-I, coincidente com o início da hipertensão sistólica e do crescimento ventricular acelerado, sugerindo um papel fundamental de IGF-I na iniciação do processo hipertrófico do miocárdio. Neste trabalho também foi observado, que houve um aumento significativo no conteúdo da proteína IGF-I, demonstrando que estes aumentos no RNA mensageiro realmente refletem aumento da proteína. O aumento no conteúdo ventricular de IGF-I mRNA retornou aos valores basais seis semanas após o clampeamento arterial, a despeito da persistência de hipertensão e hipertrofia ventricular, sugerindo que uma vez que a hipertrofia cardíaca já esteja estabelecida, não seja mais

necessário uma expressão local alta de IGF-I. Os autores não comentam sobre o comportamento da proteína IGF-I após seis semanas de constrição arterial.

Ito e colaboradores demonstraram, pela primeira vez em 1993 (97), que IGF-I induz hipertrofia com aumento concomitante da transcrição de genes músculo específicos e que este efeito hipertrófico é completamente bloqueado, no rato, por IGFBP-3. Os autores sugerem que o IGF-1 induz hipertrofia através de seus próprios receptores, presentes em abundância no miocárdio de animais recém-nascidos.

Pfeifle e colaboradores (61) demonstraram, "in vitro", que IGF-I é necessário para o efeito biológico completo de outros fatores de crescimento. Elgin e colaboradores demonstraram que a estimulação da síntese de DNA por IGF-I nos fibroblastos e músculos lisos da aorta é aumentada pela adição de IGFBP-1 (7). A estimulação com insulina isoladamente, em um meio sem IGFBP-1, não teve efeito nenhum sobre a ação mitogênica de IGF-1. Clemmons e colaboradores (7), usando análogos de IGF-1 com afinidade alterada por IGFBP-1 e IGFR-I, demonstraram que a associação com IGFBP-1 e a ocupação do receptor IGFR-I são necessárias para uma estimulação máxima da síntese de DNA pelo IGF-I. A insulina "in vivo" diminui rapidamente os níveis de IGFBP-1 (7). Powell e colaboradores (7) demonstraram que a insulina inibe a transcrição de IGFBP-1. Bar e colaboradores (11), ao observarem que os níveis de IGFBP-1 eram reduzidos trinta minutos após a administração da insulina, questionaram a hipótese de que esta queda rápida nos níveis de IGFBP-1 fosse devida somente a uma alteração na transcrição

do gene e a síntese de proteína. Estes autores puderam demonstrar, em coração de ratos batendo, que a insulina aumenta a permeabilidade transvascular de IGFBP-1, aumentando sua captação pelos tecidos e conseqüentemente diminuindo rapidamente seus níveis circulantes. Os achados sugerem que a insulina não só regula a velocidade de produção como também a distribuição de IGFBP-1 nos tecidos.

Foi demonstrado, em 1990, no coração de ratos, que a IGFBP-1 se localiza preferencialmente no músculo cardíaco ao invés do tecido conectivo, sugerindo uma afinidade especial por estas células (97). A IGFBP-1 pode ser encontrada nos diferentes tecidos do corpo humano em duas formas diferentes: Na forma fosforilada com serina, que tem uma grande afinidade com IGF-I, e na forma não fosforilada que tem uma afinidade menor com o fator de crescimento (7). A variação dos níveis sanguíneos de serina, entre outros estímulos metabólicos, é um dos determinantes do predomínio de uma forma sobre a outra.

Foi demonstrado, na literatura, que as mães diabéticas tem uma hiperaminoacidemia generalizada e que a concentração materna de aminoácidos é o maior determinante do crescimento fetal (102). Metzger e colaboradores (138) encontraram que os níveis de serina, isoleucina e alanina tem relação com o peso fetal em gestações complicadas por diabetes.

Kalkkhoff (102) afirma que os níveis de serina são os que demonstram maior correlação com o crescimento fetal e é categórico ao afirmar, baseado nos trabalhos publicados na literatura e seus próprios achados, que a

concentração materna de serina é o marcador mais consistente do peso fetal no final da gestação. A concentração de aminoácidos no feto aumenta conjuntamente com a concentração da mãe através de um sistema de transporte ativo existente na placenta (102).

Salardi e colaboradores (194), em um estudo com o sangue do cordão umbilical de 98 fetos entre 19 a 37 semanas de gestação, demonstraram que tanto a insulina como o hormônio de crescimento não são diretamente responsáveis pelo crescimento fetal, rejeitando a hipótese de que a hiperinsulinemia, por si só, pudesse causar crescimento exagerado do coração e do feto.

Baseados nos achados do presente estudo e nos dados da literatura atual, é possível formular a seguinte hipótese, quanto a etiologia da hipertrofia cardíaca transitória em recém-nascidos de mães diabéticas: Os níveis séricos elevados de serina nos fetos de mães diabéticas fariam com que houvesse um aumento na concentração da forma serino-fosforilada de IGFBP-1. Esta forma de IGFBP-1, com a qual IGF-I forma um complexo binário de 50 kda, tem uma afinidade maior por IGF-I do que IGFBP-3 com a qual forma um complexo quaternário de aproximadamente 150 kda. O complexo formado por IGF-1 e IGFBP3, devido ao alto peso molecular, não é capaz de cruzar a barreira capilar, ficando inacessível aos tecidos e sendo o maior "pool" de IGF-1 na circulação, contendo 75% do IGF-1 circulante (7,36,37). O complexo menor, formado por IGF-1 e IGFBP-1, penetra nos tecidos com facilidade, aumentando a concentração celular de IGF-1 e permitindo sua interação com

seus receptores intracelulares. A insulina estimula a síntese de IGF-1, aumenta a permeabilidade vascular e a captação tecidual de IGFBP-1 (11), facilitando ainda mais a interação IGF-1, IGFBP-1 e IGF-1R, fundamental, como dito acima, para a estimulação da síntese de DNA por IGF-1. Existe uma concentração elevada de IGF-1R e IGFBP-1 na fibra muscular cardíaca, podendo explicar o crescimento específico anormal do coração em relação aos outros órgãos nos recém-nascidos de mães diabéticas ou de mães com níveis altos de serina. Esta hipótese também explicaria porque os níveis séricos de hemoglobina glicosilada na mãe não tem correlação com a macrosomia e a hipertrofia cardíaca neonatal, já que pode haver hiperaminoacidemia materna e fetal independentemente de haver ou não hiperglicemia e que, devido à hiperplasia das células de Langerhans, pode haver hiperinsulinemia fetal mesmo sem a presença de níveis elevados de glicose.

A demonstração, neste estudo, de que existe associação estatisticamente significativa entre os níveis plasmáticos de IGF-1 e IGFBP-3 e o peso de nascimento é semelhante à descrita na literatura (7, 10, 49, 85, 112, 117, 118). Os achados deste estudo reforçam mais uma vez aqueles que demonstram o papel trófico de IGF-1 e sua participação no crescimento fetal. Os valores médios encontrados dos fatores de crescimento e suas proteínas ligantes apresentaram uma grande variação em todos os grupos estudados. Esta variação ampla nos valores dos IGF é bem descrita na literatura, refletindo, inclusive, uma ausência de critérios que determinem uma faixa de valores normais nos recém-nascidos, mesmo após considerarmos o peso e a idade

gestacional. Os valores médios de IGF-1 encontrados na literatura mundial, para recém-nascidos a termo normais variou desde níveis indetectáveis (194) até $138 \pm 6,7$ ng/ml (117, 118, 221). Esta variabilidade pode ser explicada pela existência de várias técnicas diferentes de radio-imunoensaio para medir estes fatores e pelo fato de que algumas medidas são realizadas no soro e outras no plasma. Alguns autores fazem estas medidas no sangue do cordão umbilical coletado da placenta, em momentos não descritos após o parto e outros fazem diretamente dos vasos periféricos dos recém-nascidos. Neste estudo, foram estabelecidos valores médios plasmáticos próprios, coletados na artéria radial da população estudada, a fim de verificar se havia diferença real entre os grupos e não somente variação por técnicas e local de coletas diferentes. Este trabalho realizou as primeiras medidas plasmáticas de IGF-1, IGF-2, IGFBP-1 e IGFBP-3 em nosso meio. Apesar da alta variabilidade dos valores de IGF encontrados, é consenso na literatura que os níveis de IGF-1 são diretamente proporcionais ao peso de nascimento. Este estudo também confirmou achados prévios de que a IGFBP-1 fetal está inversamente associada ao peso de nascimento (10, 36, 112, 184, 234).

Níveis plasmáticos elevados de IGFBP-1 em condições de déficit de crescimento podem indicar alta produção ou baixa utilização, com deslocamento de IGFBP-1 dos tecidos para o sangue periférico.

7.2 Macrossomia e Hipertrofia Cardíaca

Este trabalho demonstrou que o peso de nascimento não está associado com hipertrofia cardíaca em recém-nascidos de mães diabéticas. Embora a análise bivariada tenha demonstrado que os recém-nascidos com hipertrofia do septo interventricular tenham um peso de nascimento significativamente maior que os recém-nascidos com diâmetro septal normal, após fazermos a análise multivariada, com a finalidade de excluir os efeitos de todos os potenciais vícios de confusão gerados por diferentes valores das distintas variáveis, considerando as distorções, foi verificado que pesos diferentes não estão associados com o tamanho do septo interventricular cardíaco em recém nascidos. Neste estudo, este evento só se mostrou associado à presença de diabetes materna e aos níveis sanguíneos de IGF-1 no recém-nascido. Estes achados demonstraram pela primeira vez, que para cada aumento de 100 gramas no peso do recém-nascido, o septo interventricular aumenta somente 0,005mm, e para um aumento de 1kg no peso de recém-nascido, o septo aumenta apenas 0,05mm. Estes resultados vão de encontro aos publicados na literatura internacional, embora tenha sido encontrada hipertrofia septal (diâmetro de 6 mm) em dois recém-nascidos GIGs, de mães não diabéticas.

Deorari e colaboradores (52) não encontraram hipertrofia cardíaca em nenhum recém-nascido GIG sem presença de diabetes materna, Dentro do grupo de filhos de mães diabéticas encontraram hipertrofia septal tanto em recém nascidos PIGs como GIGs sem diferença estatística entre os dois

grupos. Mace e colaboradores (128), comparando grupos de RNMD com controles sem a presença de diabetes materna, não encontraram em nenhum recém-nascido GIG, do grupo controle um septo interventricular maior do que 5mm. Dentro do grupo dos filhos de diabéticas, o aumento da espessura septal não teve correlação com o peso de nascimento. Zielinsky e colaboradores (235), em estudo ecocardiográfico retrospectivo em fetos e RNMD, encontraram uma prevalência aumentada de hipertrofia cardíaca em recém-nascidos com mais de 4kg, mas não em GIGs com menos de 4kg. Os autores não comentam se havia correlação linear entre o aumento de peso após os 4kg e o diâmetro do septo interventricular. Hageman e Zielinsky (84), em estudo longitudinal em fetos e RNMD, demonstraram não haver associação entre macrossomia e hipertrofia cardíaca, mesmo em recém-nascidos com mais de 4kg. O achado, no presente estudo, de hipertrofia septal em dois recém-nascidos GIGs sem a presença de diabetes materna permanece sem uma explicação óbvia. A hipertrofia regrediu nos três primeiros meses de vida, apresentando uma história natural idêntica à hipertrofia cardíaca do RNMD e afastando a hipótese de miocardiopatia hipertrófica assimétrica familiar. Seria possível argumentar que o teste de tolerância à glicose é realizado somente uma vez durante o pré-natal, na vigésima quarta semana de gestação, e que o surgimento de diabetes após este período, no terceiro trimestre, passaria despercebido, fazendo que um certo número de crianças nascidas de mães diabéticas ficassem sem este diagnóstico.

A teoria inicial, portanto, de que a hipertrofia cardíaca dos filhos de mães diabéticas fosse uma manifestação de uma organomegalia geral e macrossomia (52, 57, 81, 87, 140) não foi comprovada. A literatura tem demonstrado que as paredes cardíacas podem aumentar isoladamente, de maneira exagerada, nestes recém-nascidos, independentemente da presença de macrossomia ou outras organomegalias, sugerindo que as características específicas, já demonstradas, dos miócitos cardíacos, tais quais um número maior de receptores IGF-1 e uma maior concentração de IGFBP-1, permitem que a resposta do miocárdio a uma oferta maior de substrato seja mais pronunciada e independente.

7.3 Achados Ecocardiográficos

Este estudo corroborou os dados já existentes na literatura que a presença de diabetes materna está associado com hipertrofia septal em recém-nascidos (52, 57, 81, 84, 87, 116, 127, 128, 140, 151, 163, 181, 224, 225, 226, 235, 236, 237). A prevalência encontrada de hipertrofia septal nos RNMD foi de 36%, não diferindo dos trabalhos publicados. Neste estudo foi encontrada uma prevalência de 3% de hipertrofia septal em recém-nascidos sem história de diabetes materna ou teste de tolerância a glicose anormais na vigésima quarta semana de gestação, divergindo dos dados publicados na literatura (140, 204). Estes recém-nascidos eram grandes para a idade gestacional,

sugerindo conforme o já discutido anteriormente, uma provável presença materna de intolerância à glicose no terceiro trimestre da gestação.

O exame ecocardiográfico, no presente estudo, foi realizado entre o terceiro e quarto dia de vida com a finalidade de evitar que o ductus arterioso estivesse patente em alguns pacientes gerando situações de pré-cargas diferentes e interferindo nas medidas das velocidades transvalvulares com confusão na interpretação dos resultados.

Neste trabalho não foi encontrada diferença estatística entre a razão das ondas E e A de Doppler mitral e tricúspide em recém-nascidos assintomáticos, com hipertrofia septal em relação aos controles, assim como não houve diferença no tempo de desaceleração destas velocidades. As medidas das velocidades das ondas E e A de Doppler também não foram diferentes entre os dois grupos. Estes achados divergem da maioria dos descritos na literatura (136, 154, 161, 184, 185). Mehta e col. (136), em um estudo comparativo entre 51 recém-nascidos a termo, assintomáticos de mães diabéticas e 80 recém-nascidos normais, da mesma idade gestacional com mães não diabéticas, encontraram diferença entre as razões E:A mitral e tricuspídea entre os dois grupos. A velocidade da onda A mitral foi estatisticamente maior entre o grupo dos filhos de mães diabéticas. A razão E:A, embora tenha sido menor que no grupo controle, não foi menor do que 1. Os autores não encontraram diferença no tempo de desaceleração entre os dois grupos, assim como não encontraram hipertrofia cardíaca em nenhum dos pacientes estudados. Os autores sugerem, baseados nos seus achados de Doppler, que recém-

nascidos de mães diabéticas tem alteração na função diastólica ventricular. Não comentam no entanto o significado clínico dos achados, já que esta diferença nas razões E:A não teve correlação com nenhum sintoma clínico ou alterações anatômicas.

Rizzo e colaboradores (185), já citados anteriormente, demonstraram uma diferença significativa dos diâmetros do septo interventricular e das razões E:A mitral e tricuspídea em fetos de mães diabéticas em relação aos controles, a partir da vigésima semana de gestação. Os autores não fizeram correlação clínica dos achados mas sugerem um desenvolvimento anormal da complacência ventricular em fetos de mães diabéticas secundária a um espessamento das paredes ventriculares.

Way e colaboradores (224) relataram dados de investigação hemodinâmica em RNMD com hipertrofia septal e demonstraram pressão diastólica intraventricular esquerda normal em todos os recém-nascidos, mesmo nos que apresentavam obstrução na via de saída do VE. Estes autores não mediram o dp/dt negativo nestes pacientes nem teceram comentários quanto à função diastólica.

Deorari e colaboradores (52), em um estudo ecocardiográfico comparando 31 RNMD com 37 recém-nascidos controles com o mesmo peso e idade gestacional, não encontraram diferença nas velocidades transvalvulares das ondas de Doppler entre os dois grupos, mesmo nos recém-nascidos com hipertrofia septal. Alguns estudos ecocardiograficos com Doppler em fetos e prematuros (99, 174, 182, 183) demonstram uma alteração gradual da

contribuição do enchimento ventricular rápido em relação à contribuição atrial do início ao fim da gestação, sugerindo que o miocárdio fetal tem uma complacência diminuída em relação ao do adulto.

Marijianowski e colaboradores (129), em um elegante trabalho em corações de recém-nascidos natimortos, demonstraram que o coração dos recém-nascidos contém uma quantidade relativamente maior de colágeno em relação às fibras cardíacas quando comparados com o coração de adultos, e que a quantidade de colágeno tipo 1 é maior que a do tipo 3.

O colágeno tipo 1 confere rigidez ao músculo cardíaco, enquanto o tipo 3 confere elasticidade (129). Em adultos, com corações normais, a quantidade de colágeno tipo 1 é três vezes menor que a do tipo 3. A quantidade de colágeno no coração, assim como a relação entre os tipos 1 e 3 diminui com a idade, atingindo níveis iguais ao dos adultos com 12 anos de idade (129). Os autores sugerem, baseados nos seus achados, que o coração dos recém-nascidos tem uma complacência diminuída, mais acentuada quanto mais prematuro for o bebê. Os trabalhos na literatura descrevem achados compatíveis com diminuição da complacência cardíaca nos recém-nascidos e fetos, usando como critérios de comparação dados anatômicos e fisiológicos de corações de adultos. A maioria dos autores não descreve o local exato aonde foram medidas as velocidades transvalvulares. No presente estudo, a fim de evitar a variabilidade descrita nos valores de velocidade de Doppler dependendo do local de aferição, as medidas foram realizadas com Doppler pulsátil, ao nível da ponta dos folhetos valvulares em todas as crianças. Em

recém-nascidos, a medida das velocidades das válvulas atrioventriculares por Doppler ao nível do anel valvular é 10 a 18% maior do que a medida ao nível dos folhetos valvulares (99,209). Não existem na literatura critérios padronizados de disfunção diastólica ventricular específicos para o recém-nascido. Valores de tempo de desaceleração, relaxamento isovolumétrico e razão E:A estabelecidos, a partir dos quais, como acontece com adultos, se considere uma função diastólica anormal com correlação clínica e anatômica. O fato de não haver sido encontradas diferenças nas velocidades das ondas de Doppler neste estudo talvez se deva ao fato de que, embora possam existir diferenças intrínsecas na contratilidade e no relaxamento miocárdico entre corações de recém-nascidos com espessura septal acima dos limites da normalidade e os recém-nascidos com espessura septal normal, estas diferenças possam ser de pouca significância clínica quando comparadas com as profundas mudanças na resistência vascular pulmonar e sistêmica, com conseqüente alteração na função miocárdica, produzida pela transição da vida intra-uterina para a extra-uterina (51).

É importante ter em mente que a interpretação correta da análise da função diastólica com qualquer método requer o reconhecimento do fato que a complacência diastólica é variável e pode mudar substancialmente no mesmo paciente de um minuto para o outro (79).

7.4 Limitações do Estudo

Uma limitação deste estudo é que ele não mede os níveis de insulina no plasma dos recém-nascidos a fim de permitir uma análise da associação entre os níveis desta e os de IGF-1. Apesar de já ter sido demonstrada na literatura que os níveis de insulina estão aumentados nos filhos de mães diabéticas e que a insulina aumenta a produção hepática de IGF-1 "in vitro" e em animais de laboratório, esta ação não foi demonstrada, "in vivo", em recém-nascidos de mães diabéticas. Estudos posteriores serão necessários para demonstrar se os níveis de insulina variam diretamente com os níveis de IGF-1 nestes recém-nascidos e se a insulina, após controlar para os níveis de IGF-1, tem alguma associação com hipertrofia cardíaca.

Outra limitação do estudo é que ele não mede a expressão de IGF-1, IGFBP-1 e IGFR diretamente no miocárdio dos recém-nascidos demonstrando definitivamente a teoria proposta anteriormente na discussão. Esta limitação no entanto é encontrada em todos os estudos "in vivo" com seres humanos. Serão necessários estudos posteriores experimentais em corações de animais de laboratório, recém-nascidos, com um modelo de diabetes gestacional.

7.5 Aplicações Futuras

Os resultados deste trabalho permitem a especulação de que a parede do septo interventricular cardíaco tenha características mitogênicas próprias,

diferentes das outras paredes cardíacas. Na presença de comunicação interventricular, o septo é capaz de criar tecido novo de fechamento desde a vida intra-uterina até a adolescência (74, 149), como também é capaz de gerar tecido proliferativo criando anéis fibrosos que provocam a obstrução da via de saída do ventrículo esquerdo (74, 149). Estas propriedades sugerem que o tecido septal tenha um número ainda maior de IGFR do que as outras paredes cardíacas. A comprovação da participação direta de IGF-1 na hipertrofia do septo interventricular poderia levar ao tratamento das hipertrofias cardíacas com anticorpos anti-IGF-1 ou substâncias inibidoras da ação de IGF-I. Também é possível imaginar uma aplicação futura dos fatores de crescimento semelhantes à insulina na indução do fechamento dos defeitos do septo interventricular, evitando cirurgia.

Este é um estudo transversal, que permitiu a comprovação clínica de vários outros trabalhos realizados "in vitro" e em animais de laboratório, com modelos de hipertrofia cardíaca por estímulo mecânico. Ele abre portas para que se desenvolvam experimentos em animais recém-nascidos, com modelo de hipertrofia cardíaca causado por diabetes gestacional.

8 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo permitem concluir que:

1. A espessura do septo interventricular aumenta paralelamente aos níveis plasmáticos de IGF-1 em recém-nascidos.
2. Não existe associação entre o peso de nascimento e a espessura do septo interventricular cardíaco em recém-nascidos de mães diabéticas.
3. Recém-nascidos assintomáticos, com hipertrofia septal transitória, não apresentam índices de função diastólica, por Doppler, diferentes de recém-nascidos sem hipertofia, na primeira semana de vida.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abergel E, Tase M, Menard J, Chatellier G. Influence of obesity on the diagnostic value of electrocardiographic criteria for detecting left ventricular hypertrophy. **American Journal of Cardiology**. 1996; **77**: 739-744
2. Almeida A, Muleris M, Dutrillaux B, Malfoy B. The insulin-like growth factor-I receptor gene is the target for the 15q26 amplicon in the breast cancer. **Genes, Chromossomes & Cancer**. 1994; **11**: 63-65
3. Anita R, Koistinen R, Seppala M, Koistinen H, Siimes M. Insulin-like growth factor-I and insulin-like binding protein 3 as determinant of blood hemoglobin concentration in healthy subjects. **Pediatric Research**. 1994; **36**: 745-748
4. Autin P B, Yatskievych T, Domingues JL, Chieffi P. Regulation of avian precardiac mesoderm development by insulin and insulin-like growth factors. **Journal of Cell Physiology**. 1996; **168**(1): 42-50
5. Babinet C. L'imprégnation génomique parentale. **Annales de Génétique**. 1993; **36** (1): 63-69

-
6. Bach L A, Rechler M M. Insulin-like growth factors and diabetes. **Diabetes/Metabolism Reviews**.1992; **8** (3): 229-257
 7. Bach M A, Bondy C A. Anatomy of the pituitary insulin-like growth factor system. **Endocrinology**. 1992; **131** (6): 2588-2594
 8. Bachem M G, Meyer D, Schafer W, Riess U, melchior R, Sell L-M, Gressner A. The response of rat liver perisinuisoidal lipocytes to polypeptide growth regulator change with their transdiferentiation into myofibroblast-like cells in culture. **Journal of Hepatology**. 1993; **18**: 40-52
 9. Backeijauw P F, Alves C, Edison M, Cleveland W, Underwood L E, Davenport M L. Effect of intevenous insulin-like growth factor-I in two patients with Leprechaunism. **Pediatric Research**. 1994; **36**: 749-754
 10. Baker J, Liu J-P, Robertson E J, Efstratiadis A. Role of insulin-like growth factors in embryonic and posnatal growth. **Cell**. 1993; **75** (1): 73-82
 11. Bar S B, Boss M, Clemmons D R, Busby W H, Sandra A, Dake B L, Booth B A. Insulin differentially alters transcapillary movement of intravascular IGFBP-1, IGFBP-2 and endothelial cell IGFBP in the heart. **Endocrinology**. 1990; **127** (1): 497-499.
 12. Batch J A, Baxter R C, Werther G. Abnormal regulation of insulin-like growth factor binding proteins in adolescents with insulin-dependent

-
- diabetes. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. 1991; 73(6): 964-968
13. Baxter R, Brown A S, Turtle J. Radioimmunoassay for somatomedin C: Comparison with radioreceptor assay in patients with growth-hormone disorders, hypothyroidism and renal failure. **Clinical Chemistry**. 1982; 28 (3): 488-495
14. Baxter R C, Martin J L, Wood M H. Two immunoreactive binding proteins for insulin-like factors in human amniotic fluid: Relationship to fetal maturity. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. 1987; 65 (3): 423-431
15. Baxter R C. Biochemical characterization of insulin-like growth factor binding proteins. **Acta Endocrinologica**. 1991; 124: 33-40
16. Beck K D, Powell-Braxton L, Widmer H R, Valverde J, Hefti F. IGF-I gene disruption results in reduced brain size, CNS hypomyelination, and loss of hippocampal granule and striatal parvalbumin-containing neurons. **Neurons**. 1995; 14 (4): 717-730
17. Berhman R E, Kliegman R M, Arvin A M. **Nelson- Textbook of Pediatrics**. 1996; 15th edition: 429-430
18. Bernardini S, Spadoni G L, Póvoa G, Boscherini B, Hall K. Plasma levels of insulin-like growth factor binding protein-1, and growth hormone

-
- binding protein activity from birth to the third month of life. **Endocrinologica**. 1992; **127**: 313-318
19. Binoux M, Roghani M, Hossenlop P, Hardouin S, Gourmelen M. Molecular forms of human IGF binding proteins: Physiological implications. **Acta Endocrinologica**. 1991; **124**: 41-47
20. Blazer-Yost B L, Watanabe M, Haverty T P, Ziyadeh F N. Role of insulin and IGF-1 receptors in proliferation of cultured renal proximal tubule cell. **Biochimica et Biophysica**. 1992; **1133**: 329-335
21. Blum W F, Ranke M B, Lechner B, Bierich J R. The polymorphic pattern of somatomedins during human development. **Acta Endocrinologica (Copenhagen)**. 1987; **116**: 445-451.
22. Bodkin N L, Sportsman R, DiMarchi R D, Hansen B C. Insulin-like growth factor-I in non-insulin dependent diabetics monkeys: Basal plasma concentration and metabolic effects of exogenously administered biosynthetic hormone. **Metabolism**. 1991; **40**(11): 1131-1137
23. Bottini F G, Gerdini G, Lucarini N, Amante A, Lucarelli P, Borgiani P, Bottini E. Both maternal and foetal genetic factors contribute to macrosomia of diabetic pregnancy. **Human Heredity**. 1994; **44**: 24-30

-
24. Boudonas G, Boura P, Lefkos N, Zacharioydaki E, Efthymiádis A. A possible role for autoantibodies in left ventricular hypertrophy. **Cardiology**. 1994; **84**: 278-283
 25. Boyd E, Metzger and The Organizing Committee. Summary and Racomendations of the Third International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. **Diabetes Spectrum**. 1992, **5**(1): 22-25
 26. Breitwesser J A, Meyer R, Sperling M A, Tsang R C, Kaplan S. Cardiac septal hypertrophy in hyperinsulinemic infants. **The Journal of Pediatrics**. 1980; **96** (3) part 2: 535-539
 27. Butt R P, Laurent G J, Bishop J E. Collagen production and replication by cardiac fibroblasts is enhanced in response to diverse classes of growth factors. **European Journal of Cell Biology**. 1995; **68** (3): 330-335
 28. Calzada C S, Meneses R T, Jiménez J D, Pakuelo C G, Sánchez M A G, Cocina E G. História natural de la miocardiopatia hipertrófica. **Revista Española de Cardiologia**. 1996; **49**: 214-225
 29. Cardell B S. Hypertrophy and hyperplasia of the pancreatic islets in newborn infants. **Journal of Pathology and Bacteriology**. 1953, **66**: 325-330
 30. Caroni P, Schneider C, Kiefer M C, Zapf J. Role of muscle insulin-like growth factors in nerve sprouting: Suppression of terminal sprouting in

- paralyzed muscle by IGF-binding protein 4. **Cell Biology**. 1994; **125**(4): 893-902.
31. Caroni P, Schneider C. Signaling by insulin-like growth factors in paralyzed skeletal muscle: Rapid induction of IGF-I expression in muscle fibers and prevention of interstitial cell proliferation by IGFBP-5 and IGFBP-4. **The Journal of Neuroscience**. 1994 ; **14**(5): 3378-3388
32. Chen W H, Pellegata N S, Wang P H. Coordinated effects of insulin-like growth factor-I on inhibitory pathways of cell progression in cultured cardiac muscle cell. **Endocrinology**. 1995; **136**(11): 5240-5243
33. Cheng W, Reiss K, Chun M J, Kajstura J, Olivetti G, Anversa P. Aging does not affect the activation of the myocyte insulin-like growth factor-I autocrine system after infarction and ventricular failure in Fischer 344 rats. **Circulation Research**. 1996; **78**(4): 536-546
34. Cittadini A, Stromer H, Clark R, Moses A C, Morgan J P, Douglas P S. Differential cardiac effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I in the rat. A combined "in vivo" and "in vitro" evaluation. **Circulation**. 1996; **93**(4): 800-809
35. Cohen G I, Pietrolungo F, Thomas J D, Klein A L. A practical guide to assesment of ventricular diastolic function using Doppler echocardiography. **Journal of the American College of Cardiology**. 1996; **27**(7): 1753-1760

-
36. Cohen P, Fielder P J, Hasegawa Y, Frisch H, Giudice L C, Rosenfeld R G. Clinical aspects of insulin-like growth factor binding proteins. **Acta Endocrinologica**. 1991; **124**: 74-85
 37. Cohen P, Rosenfeld R G. Physiologic and clinical relevance of the insulin-like growth factor binding proteins. **Current Opinion in Pediatrics**. 1994; **6**: 462-467
 38. Condamine F, Vztovsnik F, Friedlander G, Menea C. Local action of phosphate depletion and insulin-like growth factor-I on "in vitro" production of 1, 25-dihydroxyvitamin D by cultured mammalian kidney cells. **Journal of Clinical Investigation**. 1994; **94**: 1673-1679.
 39. Conference: Moderator: LeRoith D. Discussants: Clemmons D, Nissley P, Rechler M M. Insulin-like growth factors in health and disease. **Annals of Internal Medicine**. 1992; **116**(10): 854-862
 40. Conover C A, Clarkson J T, Bale L K. Physiological concentrations of insulin induce cellular desensitization to the mitogenic effects of insulin-like growth factor-I. **Diabetes**. 1992; **43**: 1130-1137
 41. Cordero L, Landon M B. Infant of the diabetic mother. **Clinics in Perinatology**. 1993; **20**(3): 635-648

-
42. Corpas E, Harman S M, Blackman M R. Serum IGF-binding protein-3 is related to igf-I but not to spontaneous GH release, in healthy old men. **Hormone Metabolism Research.** 1992; **24**: 543-545
 43. Coustan D R, Imarah J. Prophylatic treatment of gestacional diabetes reduces the incidence of macrossomia, operative delivery and birth trauma. **American Journal of Obstetrics and Gynecology.** 1984; **150**: 836-842
 44. Czerwinski S M, Novakofski J, Bechtel P. Is insulin-like growth factor gene expression modulated during cardiac hypertrophy? **Sports Medicine and Exercise.** 1993; **25**(4): 495-500
 45. Dauncey M J, Burton K A, Tivey D R. Nutritional modulation of insulin-like growth factor-I expression in early postnatal piglets. **Pediatric Research.** 1994; **36**(1): 77-84
 46. Davies S M. Development regulation of genomic imprinting of the IGF-2 gene in human liver. **Cancer Research.** 1994; **54**: 2560-2562
 47. DeChiari T, Efstratiadis A, Robertson R J. A growth deficiency phenotype in heterozygous mice carrying an IGF-II gene disrupted by targeting. **Nature.** 1990; **345**: 78-90

-
48. D'Ercole A J. Potential use of growth hormone in conditions other than short stature: Treatment with IGF-I as anabolic agent. **Diabetes / Metabolism Reviews.** 1992; **8**(3):23-31
 49. D'Ercole A J. Recent advances in the insulin-like growth factors. **Clinical Pediatric Endocrinology.** Oxford Blackwell Scientific Publications. 1992; **3**: 5-13
 50. D'Ercole J, Willson D F, Underwood L E. Changes in the circulating form of serum somatomedin- C during fetal life. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.** 1980; **51** (3): 674-676
 51. De Léon D, Terry C, Nissley S P. Direct detection of insulin-like growth factor II (IGF-II) by chemiluminescence without interference by IGF binding proteins. **Endocrinology.** 1994; **134**(4): 1960-1963
 52. Deorari A K, Saxena A, Singh M, Shrivastava S. Echocardiographic assesment of infants born to diabetic mothers. **Archives of Disease in Childhood.** 1989; **64**: 721-724
 53. Deveraux R B, Casale P N, Kligfield P, Eisenberg R R, Miller D, Campo E, Alonso D R. Performance of primary and derived M-mode echocardiographic measurements for detection of left ventricular hypertrophy in necropsied subjects and in patients with systemic hypertension, mitral regurgitation and dilated cardiomyopathy. **American Journal of Cardiology.** 1986; **57**: 1388-139

-
54. Dills D G. IGF-I and diabetic retinopathy. **Diabetes**. 1991; **40**: 1726- 1730
 55. Donohue T J, Dworkin L D, Lango M N, Fliegner K, Lango R P, Benstein J A, Stater W R, Catanese V M. Induction of myocardial insulin-like growth factor gene expression in left ventricular hypertrophy. **Circulation**. 1994; **89**: 799-809
 56. Drexel H, Bichler A, sailer A, Breier C, Lisch H J, Braunsteiner J, Patsch J R. Prevention of perinatal morbidity by tight metabolic control in gestational diabetes mellitus. **Diabetes Care**. 1988; **11**: 761-768
 57. Driscoll S G, Benirschkak K, Curtis G W. Neonatal deaths among infants of diabetic mothers. **American Journal of Disease of Childhood**. 1960; **100**: 818-835
 58. Duncan J M. The recognition of fetal macrosomia. **Trans Obstetrical Society**. London. 1882; **24**: 256-259
 59. Durant M, Gargosky E, Dahlstrom A, Hellman B, Castillo R O. Regulation of postnatal intestinal maturation by growth hormone: Studies in rats with isolated growth hormone deficiency. **Pediatric Research**. 1996; **40**(1): 88-93
 60. Easty D J, Herlyn M, Bennett D C. Abnormal protein tyrosine kinase gene expression during melanoma progression and metastasis. **International Journal of Cancer**. 1995; **60**(1): 129-136

-
61. Edwall D, Schalling M, Jennisch E, Norstedt G. Induction of Insulin-like growth factor I messenger ribonucleic acid during regeneration of rat skeletal muscle. **Endocrinology**. 1989; **124**: 820-825
 62. Eisenberg C A, Bader D M. Establishment of the mesodermal cell line QCE-6. A model system for cardiac cell differentiation. **Circulation Research**. 1996; **78**(2): 205-216
 63. Ekström T J, Cui H, Li X, Ohlsson R. Promoter-specific IGF2 imprinting status and its plasticity during human liver development. **Development**. 1995; **121**(2): 309-316
 64. Engelman G L, Boehm K D, Haskell J F, Khairallah P A, Ilan J. Insulin-like growth factors and neonatal cardiomyocyte development: ventricular gene expression and membrane receptor variations in normotensive and hypertensive rats. **Molecular Cell Endocrinology**. 1989; **63**: 1-14.
 65. Epstein M F, Nicholls E, Stubblefield P G. Neonatal hypoglycemic therapy. **Journal of Pediatrics**. 1979; **94**: 449-453
 66. Eriksson U, Duc G, Froesch E R, Zapf F. Insulin-like growth factors I and II binding proteins (IGFBPs) in human colostrum / transitory milk during the first week postpartum: Comparison with neonatal and maternal serum. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 1993; **196**(1): 267-273

-
67. Feigenbaun H. **Echocardiography. Fourth edition. Lea & Febiger.** 1986;
68. Foegh M L, Ramwell P W. Angiopeptin: Experimental and clinical studies of inhibition of myointimal proliferation. **Kidney International Suppl.** 1995; **52**: 18-22
69. Freinkel N, Metzger B, Phelps R L, Dooley S, Ogata E S, Radvany R M, Belton A. Gestational diabetes mellitus. heterogeneity of maternal age, weight, insulin secretion, HLA antigens, and islet cell antibodies and the impact of maternal metabolism on pancreatic B-cell and somatic development of offspring. **Diabetes.** 1985; **34**(2): 1-7.
70. Friberg P, Isgaard J, Wahlander M, Wickman A, Guron G, Adams M A. Cardiac hypertrophy and related growth processes: The role of insulin-like growth factor-I. **Blood Pressure.** 1995; **2**: 22-9
71. Funk B, Kessler U, Eisenmenger W, Hansmann A, Kolb H J, Kiess W. Expression of the insulin-like growth factor-II mannose-6-phosphate receptor in multiple human tissues during fetal life and early infancy. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.** 1992; **75**: 424-431
72. Funk B, Kessler U, Eisenmenger W, Hansmann A, Kolb H J, Kiess W. The expression of insulin-like growth factor binding protein is tissue specific during human fetal life and early infancy. **Acta Endocrinologica.** 1992; **127**: 107-114

-
73. Furnaletto R. Pitfalls in the somatomedin-C radioimmunoassay. **Journal of Clinical endocrinology and Metabolism**. 1982; **54**(5): 1084-1086
74. Garson A, Bricker J T, Mcnamara D G. **The Science and Practice of Pediatric Cardiology**. 1990. Lea & Febiger. vol II: 1617-1646
75. Ghosh G, Pildes R S, Richton S, Ajayi O. Maternal and cord serum glycosylated protein in neonatal macrosomia and correlation with birth weight. **Obstetric & Gynecology**. 1990; **75**(1): 79-83
76. Giannella -Neto D, Cavaleiro A, Sadayoama R, Wajchenberg B L, Spencer E M. Evaluation of a radioimmunoassay for somatomedin-C / insulin-like growth factor-I (Sm-C/IGF-I) in human plasma. **Clinica Chimica Acta**. 1990; **188**: 253-260
77. Giudice L C, Farrel E M, Pham H, Rosenfeld R G. Identification of insulin-like growth factor-binding protein-3 (IGFBP-3) and IGFBP-2 in human follicular fluid. **Journal of Clinical Epidemiology and Metabolism**. 1990; **71**: 1330-1338
78. Glennon P E, Sugden P H, Poole-Wilson P A. Cellular mechanisms of cardiac hypertrophy. **British Heart Journal**. 1995; **73**: 496-499
79. Grossman W. **Cardiac Catheterization and angiography**. Third edition. 1986: 312-317

-
80. Gruppuso P A, Walker T D, Carter P A. Ontogeny of hepatic type I insulin-like growth factor receptors in the rat. **Pediatric Research**. 1991; **29**: 226-230.
 81. Gutgesel H P, Speer M E, Rosenberg H S. Characterization of the cardiomyopathy in infants of diabetic mothers. **Circulation**. 1980; **61**(2): 441-450
 82. Gutierrez J, Parrizas M, Maestro M A, Navarro I, Plisetskaya E M. Insulin and IGF-I binding and tyrosine kinase activity in fish heart. **Journal of Endocrinology**. 1995; **146**(1): 35-44.
 83. Hagan D, Deely W, Sahn D, Friedman W F. Echocardiographic criteria for normal newborn infants. **Circulation**. 1973; **48**: 1221-1226
 84. Hagemann L L, Zielinsky P. Estudo pré-natal da miocardiopatia hipertrófica e sua associação com os níveis de insulina em fetos de mães diabéticas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. 1996; **66**(4): 193-198
 85. Hall K, Hansson U, Lundin G, Luthman M, Persson B, Póvoa G, Stangenberg M, Öfverholm U. Serum levels of somatomedins and somatomedin-binding protein in pregnant women with type I or gestational diabetes and their infants. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. 1986; **63**: 1300-1306

-
86. Hall K, Brismar K, Grissom F, Lindgren R, Póvoa G. IGFBP-I, production and control mechanisms. **Acta Endocrinologica**. 1991; **124**: 48-54
 87. Hallyday H L. Hypertrophic cardiomyopathy in infants of poorly-controlled diabetic mothers. **Archives of Disease in Childhood**. 1981; **56**: 258-263
 88. Hanseus K, Bjorkhem G, Lundstrom N R. Dimensions of cardiac chambers and great vessels by cross-sectional echocardiography in infants and children. **Pediatric Cardiology**. 1988; **9**: 7-15
 89. Hayry P, Myllarniemi M, Aavik E, Alatalo S, Aho P, Vilmaz S. Stable D-peptide analog of insulin-like growth factor-1 inhibits smooth muscle cell proliferation after carotid injury in the rat. **FASEB Journal**. 1995; **9**(13): 1336-1344
 90. Hedborg F, Holmgren L, Sandstedt B, Ohlsson R. The cell type-specific IGF2 expression during early human development correlates to the pattern of overgrowth and neoplasia in the Beckwith-Wiedmann syndrome. **American Journal of Pathology**. 1994; **154**(4): 802-817
 91. Hedborg F, Ohlsson R, Sandstedt B, Grimelius L, Hoehner J C, Pahlman S. IGF-2 expression is a marker for paraganglionic/ SIF cell differentiation in neuroblastoma. **American Journal of Pathology**. 1995; **146**(4): 833-847

-
92. Hellerström C, Swenne I. Functional maturation and proliferation of fetal pancreatic B-cells. **Diabetes**. 1991; **40**(suppl 2): 89-93
93. Henry W, Clark C E, Epstein S E. Asymetric septal hypertrophy: Echocardiographic identification of the pathognomonic anatomic abnormality. **Circulation**. 1973; **46**: 225-233
94. Herrera E, Palacin M, Martin A, Lasunción M A. Relationship between maternal and fetal and placental glucose transfer in rats with maternal diabetes of varying severity. **Diabetes**. 1985; **34**(suppl 2): 42-46
95. Holly J M P. The physiological role of IGFBP-1. **Acta Endocrinologica**. 1991; **124**: 55-62
96. Ishii A, Tatsunami S, Satoh I, Honma T, Hiroshi H, Yago N. Growth dynamics of the heart from perinatal period to childhood. **Journal of Perinatal Medicine**. 1990; **18**(6): 459-463
97. Ito H, Hiroe M, Hirata Y, Tsujino M, Adachi S, Shichiri M, Koike A, Nogami A, Marumo F. Insulin-like growth factor -I induces hypertrophy with enhanced expression of muscle specific genes in cultured rat cardiomyocytes. **Circulation**. 1993; **87**: 1715-1721
98. Jammes H, Peyrat J-P, Ban E, Vilain M-O, Haour F, Djiane J, Bonnetterre J. Insulin-like growth factor-I receptors in human breast tumour:

- Localisation and quantification by histo-autoradiographic analysis. **British Journal of Cancer**. 1992; **66**: 248-253
99. Johnson G L, Moffets C B, Noonan J A. Diastolic echocardiographic studies of diastolic ventricular filling patterns in premature infants. **American Heart Journal**. 1988; **116**: 1568-1574
100. Johnson M C, Gutierrez F R, Sekarski D R, Ong C M, canter C E. Comparison of left ventricular mass and function in early versus late repair of coarctation of the aorta. **The American Journal of Cardiology**. 1994; **73**: 698-701
101. Jorgensen J O, Moller N, Bang P, Hall K. Preservation of inherent diurnal serum insulin-like growth factor binding protein 1 pattern during low dose GH infusion. **Hormone and Metabolism Research**. 1992; **24**: 496-497
102. Kalkhoff R, Ronald K. Impact of maternal fuels and nutritional state on fetal growth. **Diabetes**. 1991; **40**(suppl2): 61-65.
103. King D L, Gopal A S. Three-dimensional echocardiography: Use of additional spatial data for measuring left ventricular mass. **Mayo Clinic Proceedings**. 1994; **69**: 293-295
104. Klapper D G, Svoboda M, Van Wyk J J. Sequence analysis of somatomedin-C: Configuration of identity with insulin-like growth factor-I. **Endocrinology**. 1983; **112**(6): 2215-2217

-
105. Klauss and Fanaroff. **Care of the high risk neonate**. Third edition. 1986.
W. B Saunders Company
106. Kluge A, Zimmermann R, Weihrauch D, Mohri M, Sack S, Schaper J, Schaper. W. Coordinate expression of the insulin-like growth factor system after microembolisation in porcine heart. **Cardiovascular Research**. 1977; **33**(2): 324-331.
107. Knopp R H, Bergelin R O, Wahl W P, Walden C E. Relationships of infants birth size to maternal lipoproteins, apoproteins, fuels, hormones, clinical chemestries and body weight at 36 weeks gestation. **Diabetes**. 1985; **34**(suppl 2): 71-77
108. Kubota T. IGF-2 in fetal-maternal circulation. **Acta Endocrinologica**. 1992; **127**: 359-365
109. Lang C H, Fan J, Cooney R, Vary T C. Interleukin 1 receptor antagonist attenuates sepsis-induced alterations in the IGF system and protein synthesis. **American Journal of Physiology**. 1996; **270** (3-pt1): 430-437
110. Langer O, Levy J, Brustman L, Anyaegbunam A, Merkatz R, Divon M. Glycemic control in gestational diabetes mellitus-- How tight is tight enough. Small for gestational age versus large for gestational age? **American Journal of Gynecology**. 1989; **161**: 646-653.

-
111. Laron Z, Suikkari A M, Klinger B, Silbergeld A, Pertzalan A, Seppälä M, Koivisto V A. Growth hormone and insulin-like growth factor regulate insulin-like growth factor-binding protein-1 in Laron type dwarfism, growth hormone deficiency and constitutional short stature. **Acta Endocrinologica**. 1992; **127**: 315-358
112. Lassarre C, Hardouin S, Daffos F, Forestier F, Frankenne F, Bimoux M. Serum insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding proteins in the human fetus. Relationship with growth in normal subjects and in subjects with intrauterine growth retardation. **Pediatric Research**. 1991; **29**: 219-225
113. Lau M M H, Stewart C E H, Liu Z, Bhatt H, Rotwein P, Stewart C L. Loss of the imprinted IGF2/ cation-independent mannose 6-phosphate receptor results in fetal overgrowth and perinatal lethality. **Genes & Development**. 1994; **15**(8): 2953-2963
114. Lauer M S, Anderson K M, Kannel W B, Levy D. The impact of obesity on left ventricular mass and geometry. **Journal of the American Medical Association**. 1991; **266**: 231-236
115. Lauer M S, Anderson K M, Larson M G, Levy D. A new method for indexing left ventricular mass for difference in body size. **American Journal of Cardiology**. 1994; **74**: 487-491

-
116. Lavin J P, Lovelace D R, Miodovnik M, Knowles H C, Barden T P. Clinical experience with one hundred seven diabetic pregnancies. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**. 1983; **147**: 742-752
117. Leger J, Noel M, Limal J M, Czernichow P. Growth factors and intrauterine growth retardation. I. Serum growth hormone, insulin-like growth factor(IGF) I, and IGF-binding protein 3 levels in children with intrauterine growth retardation compared with normal controls subjects: Prospective study from birth to two years of age. **Pediatric Research**. 1996; **40**(1): 94-100
118. Leger J, Noel M, Limal J M, Czernichow P. Growth factors and intrauterine growth retardation. II. Serum growth hormone, insulin-like growth factor(IGF) I, and IGF-binding protein 3 levels in children with intrauterine growth retardation compared with normal controls subjects: Prospective study from birth to two years of age. **Pediatric Research**. 1996; **40**(1): 101-107
119. Leighton P A, Ingram R, Eggenschwiler J, Efstratiadis A, Tilgman S M. Disruption of imprinting caused by deletion of the H19 gene region in mice. **Nature International Weekly Journal of Science**. 1995; **375**(6526): 34-39

-
120. Leikin E L, Jenkins J H, Pomerantz G A, Klein L. Abnormal glucose screening test in pregnancy: A risk factor for fetal macrosomia. **Obstetric & Gynecology**. 1987; **69**: 570-573
121. LeRoith D, Clemmons D, Nissley P, Rechler M. Insulin-like growth Factors in health and disease. **Annals of Internal Medicine**. 1992; **116**(10):854-862
122. Levy D, Garrison R J, Savage D D, Kannel W B, Castelli W P. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham heart study. **The New England Journal of Medicine**. 1990; **322**: 1561-1566
123. Li D F H, Wong V C W, O'hoy K M K, Yeunh M H K. Is treatment needed for mild impairment of glucose tolerance in pregnancy? A randomized controlled trial. **British Journal of Obstetrics & Gynecology**. 1987; **94**: 851-854
124. Lie J T, Grossman S J. Pathology of the heart in acromegaly: Anatomic findings in 27 autopsied patients. **American Heart Journal**. 1980; **100**(1): 41-52
125. Lindsay M K, Graves W, Klein L. The relationship of one abnormal glucose tolerance test value and pregnancy complications. **Obstetric & Gynecology**. 1988; **73**(1): 103-106

-
126. Luboshitzki R, Hammerman H, Barzilai D, Markiewicz W. The heart in acromegaly: Correlation of echocardiographic and clinical findings. **Israel Journal of Medical Sciences**. 1980; **16**(5): 378-383
127. Mace S, Hirschfeld S S, Riggs T W, Fanaroff A A, merkats I R, Liebman J. Cardiac hypertrophy in infants of diabetic mothers. An echocardiographic study. **Pediatric Research**. 1979; **13**: 348-352
128. Mace S, Stephen S H, Riggs T, Fanaroff A A, Merkatz I R. Ecocardiographic abnormalities in infants of diabetic mothers. **The Journal of Pediatrics**. 1979; **95**(6): 1013-1019
129. Marijianowski M M H, Loos V D, Mohrschladt M F, Becker A E. The neonatal heart has a relatively high content of total collagen and type I collagen, a condition that may explain the less compliant state. **Journal of The American College of Cardiology**. 1994; **23**(5): 1204-1208.
130. Marino T A, Haldar S, Williamson E C, Beaverson K, Walter R A, Marino D R, Beatty C, Lipson K E. Proliferating cell nuclear antigen in developing and adult rat cardiac muscle cells. **Circulation Research**. 1991; **69**: 1353-1360
131. Maron B J, Spirito P, Wesley Y, Arce J. Development and progression of left ventricular hypertrophy in children with hypertrophic cardiomyopathy. **The New England Journal of Medicine**. 1986; **315**(10): 610-614

-
132. Martin J L, Baxter R C. Inhibition of human fibroblast insuline-like growth factor binding protein (IGFBP) production by IGFBP-3. **Endocrinology**. 1992; **131**(3): 1568-1570
133. Maulik D, Nanda N C, Saini V D. Fetal doppler echocardiography: Methods and chaacterization of normal and abnormal hemodynamics. **American Journal of Cardiology**. 1984; **53**: 572-578
134. McAlindon T E, Teale J D, Dieppe P A. Levels of insulin related growth factor I in osteoarthritis of the knee. **Annals of the Rheumatic Diseases**. 1993; **52**: 229-231
135. Mckenna W, Franklin R, Nihoyannopoulos P, Robinson K, Deanfield J E, Dickie S, Krikler S. Arrhythmia and prognosis in infants, children and adolescents with hypertrophic cardiomyopathy. **Journal of the American College of Cardiology**. 1988; **11**: 147-153
136. Mehta S, Nuamah I, Kalhan S. Altered diastolic function in asymptomatic infants of mothers with gestacional diabetes. **Diabetes**. 1991; **40**(suppl 2): 56-60
137. Menon R K, Cohen R M, Sperling M A, Cutfield W S, Mimouni F, Khoury J C. Transplacental passage of insulin in pregnant women with insulin dependent diabetes mellitus. Its role in fetal macrossomia. **The New England Journal of Medicine**. 1990; **323**: 309-315

-
138. Metzger B E. Biphasic effects of maternal metabolism on fetal growth. Quintessential expression of fuel-mediated teratogenesis. **Diabetes**. 1991; **40**(suppl 2): 99-105
139. Miller E, Hare J W, Cloherty J P, Dunn P J, Gleason R E, Soelander S, Kitzmiller J. Elevated maternal hemoglobina_{1c} in early pregnancy and major congenital anomalies in infants of diabetic mothers. **Medical Intelligence**. 1981; **22**: 1331-1334
140. Miller H C, Wilson H M. Macrossomia, cardiac hypertrophy, erythroblastosis, and hyperplasia of the islets of langerhans in infants of diabetic mothers. **Journal of Pediatrics**. 1943; **23**: 251-266
141. Miller J D, Esparza A, Wright N M, garimella V, Lai J, Lester S E, Mosier H D. Spontaneous growth hormone release in term infants: Changes during the first four days of life. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. 1993; **76**: 1058-1062
142. Miller L D, Wright N M, Esparza A, Jansons R, Yang H C, Hahn H, Mosier D. Spontaneous pulsatile growth hormone release in male and female premature infants. **Journal of Endocrinology and Metabolism**. 1992; **75**: 1508-1513
143. Mills J L, Knopp R H, Simpson J L. Lack of relation of increased malformation rate in infants of diabetic mothers to glycemic control during

- organogenesis. **The New England Journal of Medicine**. 1988; **318**: 671-676
144. Minuto F, Barreca A, Del Monte P, Giordano G. Paracrine actions of IGF binding proteins. **Acta Endocrinologica**. 1991; **124**: 63-69
145. Mirlesse V, Frankenne F, Alsat E, Poncelet M, Hennen G, Evain-Brion D. Placental growth hormone levels in normal pregnancy and in pregnancies with intrauterine growth retardation. **Pediatric Research**. 1993; **34**: 439-442
146. Molitch M E. Clinical manifestations of acromegaly. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**. 1992; **21**(3): 605-606
147. Morkin E. Regulation of myosin heavy chain genes in the heart. **Circulation**. 1993; **87**(5): 1451-1460
148. Mosler H D, Culler F L, Fuong R, Jansons R A. Do trophoblastic receptors for insulin, IGF-I and IGF-II play a role in fetal overgrowth in diabetic pregnancy? Abstract. **Pediatric Research**. 1993; (suppl 2): 30 A
149. Moss and Adams. **Heart Disease in Infants, Childrens and Adolescents. Including fetus and young adults**. 1995. 2: 1337-1364. Fifth edition.
150. Moukarzel A A, Goulet O, Salas J S, Marti-Henneberg C, Buchman A L, Cynober L, Rappaport R, Ricour C. Growth retardation in children

- receiving long-term total parenteral nutrition: Effects of ornithine @-ketoglutarate. **The American Journal of Nutrition**. 1994; **60**(3): 408-413.
151. Naye R L. Infants of diabetic mothers a quantitative, morphologic study. **Pediatrics** 1965; **35**: 980-988
152. Nagashima K, Itoh K, Kurome T. Levels of insulin-like growth factor-I in full and preterm human milk in comparison to levels in cow's milk and in formulas. **Biology of Neonate**. 1990; **58**: 343-346
153. Nidorf S M, Picard M H, Triulzi M O, Thomaz J D, Newell J N, King E M, Weyman A E. New perspectives in the assesment of cardiac chamber dimensions during developepment and childhood. **Journal of the American College of Cardiology**. 1992; **19**: 983-988
154. Nishimura R A, Housman P R, Hatle L K, Tajik A J. Assesment of diatolic function of the heart: Background and current applications of doppler echocardiography. Part I. Physiologic and pathophysiologic features. **Mayo Clinic Proceedings**. 1989; **64**: 71-81
155. Nishimura R A, Abel M D, Hatle L K, Tajik A J. Assesment of diastolic function of the heart: Background and current applications of doppler ecocardiography. Part II. Clinical studies. **Mayo clinic Proceedings**. 1989; **64**: 181-204

-
156. Nordenskjöld A, Hedborg F, Luthman H, Nordenskjöld M. Tight linkage between the Beckwith-Wiedmann syndrome and a microsatellite marker for the TH locus. **Human Genetics**. 1993; **92**: 296-298
157. Norgren S, Li L-S, Luthman H. Regulation of human insulin receptor RNA splicing in HEPG2 cells: Effects of glucocorticoid and low glucose concentration. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 1994; **199**(1): 277-284
158. Nystrom A, Hedborg F, Ohlsson R. Insulin-like growth factor 2 cannot be linked to a familial form of Beckwith-Wiedemann syndrome. **European Journal of Pediatrics**. 1994; **153**: 574-580
159. Ogawa O, A.McNoe L, Eccles M, Morison I, Reeve A E. Human insulin-like growth factor type I and type II receptors are not imprinted. **Human Molecular Genetics**, 1993; **2**(12): 2163-2165
160. Oliver M H, Harding J E, Breier B H, Evans P C, Gluckman P D. Glucose but not a mixed amino acid infusion regulates plasma insulin-like growth factor-I concentration in fetal sheep. **Pediatric Research**. 1993; **34**: 62
161. Paillole C, Dahan M, Paycha F, Cohen A, Passa P, Gourgon R. prevalence and significance of left ventricular filling abnormalities determined by doppler echocardiography in young type I (insulin-dependent) Diabetic patients. **The American Journal of Cardiology**. 1989; **64**: 1010-1016

-
162. Parrizas M, Maestro M A, Baynos N, Navarro I, Planas J, Gutierrez J. Insulin / IGF-I binding ratio in skeletal and cardiac muscles of vertebrates: A phylogenetic approach. **American Journal of Physiology**. 1995; **269**(6, pt2): 1370-1377
163. Pedersen J. The pregnant diabetic and her newborn: Problems and managements. **Baltimore. Williams and Wilkins Co**, 1967.
164. Phillips L S, Goldstein S, Pao C I. Nutrition and somatomedin. XXVI. Molecular regulation of IGF-I by insulin in cultured rat hepatocytes. **Diabetes**. 1991; **40**: 1525-1530
165. Phipps K, Barker D J P, Hales C N, Fall C H D, Osmond C, Clark P M S. Fetal growth and impaired glucose tolerance in men and women. **Diabetologia**. 1993, **36**: 225-228
166. Picard M H, Weyman A E. Echocardiographic assesment of left ventricular mass- what more can we learn? **Mayo Clinic Proceedings**.1994; **69**: 291-292
167. Pietrzkowski Z, Lammers R, Carpenter G, Soderquist A M, Limardo M, Phillips P D, Ullrich A & Baserga R. Cells overexpressing the IGF-1 and IGF1-R RNAs are capable of growing in serum free media. **Cell Growth Differentiation**. 1992; **3**: 199-205

-
168. Pildes R. Infants of diabetic mothers. **The New England Journal of Medicine**. 1973; **289** (17): 902-904
169. Pleifer K, Tilghman S M. Allelic-specific gene expression in mammals: The curious case of the imprinted RNAs. **Gene & Development**. 1994; **8**: 1867-1874
170. Procianoy R S, Pinheiro C E A. Neonatal hyperinsulinism after short-term maternal beta sympathomimetic therapy. **Journal of Pediatrics**. 1982; **101**(4): 612-614
171. Quattrin T, Albini C H, Mills B, MacGillivray M H. Comparison of urinary growth hormone and IGF-I excretion in small and appropriate for gestacional-age infants healthy children. **Pediatric Research**. 1990; **28**: 209-212
172. Quattin T, Albini C H, Sportsman C, Shine B J, MacGillivray M H. Urinary Insulin-like growth factor-II excretion in healthy infants and children with normal and abnormal growth. **Pediatric Research**. 1993; **34**: 435-438
173. Rabkin S W, Dawson K G, Bhaumick B, O'Brien E, Kendler D L. serum insulin IGF-I, IGF-II and growth hormone, and left ventricular mass on noninsulin-dependent diabetes mellitus. **Canadian Journal of Cardiology**. 1996; **12**(3): 264-270

-
174. Rainier S, Dobry C J, Feinberg A P. Loss of imprinting in hepatoplastoma. **Cancer Research**. 1995; **55**: 1836-1838
175. Reed K L, Meijboom E J, Sahn D J, Scagnelli S A, Valdes-Cruz L M, Shenker L. Cardiac doppler flow velocities in human fetuses. **Circulation**. 1986; **73**(1): 41-46
176. Reed K L, Sahn D J, Scagnelli S, Anderson C F, Shenker L. Doppler ecocardiographic studies of diastolic function in the human fetal heart: Changes during gestation. **Journal of American College of Cardiology**. 1986; **8**: 391-395
177. Reiss K, Sell P C, Pietrkowski Z, Baserga R. The insulin-like growth factor I receptor is required for the proliferation of hematopoietic cells. **Oncogene**. 1992; **7**: 2243-2248
178. Reiss K, Meggs L G, Li P, Olivetti G, Capasso J M, Anversa P. Upregulation of IGF-1, IGF-1 receptor, and late growth related genes in ventricular myocytes acutely after infarction in rats. **Physiology**. 1994; **158**: 160-168
179. Reiss K, Cheng W, Kajstura J, Sonnenblick E H, Meggs L G, Anversa P. Fibroblast proliferation during myocardial development in rats is regulated by IGF-I receptors. **American Journal of Physiology**. 1995; **269**(3, pt2): 943-951

-
180. Reller M D, Tsang R C, Meyer R A, Braun C P. Relationship of prospective diabetes control in pregnancy to neonatal cardiorespiratory function. **The Journal of Pediatrics**. 1985; **106**: 86-90
181. Reller M D, Kaplan S. Hypertrophic cardiomyopathy in infants of diabetic mothers. **American Journal of Perinatology**. 1988; **5**: 353-358
182. Report of the 93rd Ross Conference on Pediatric Research. Infant of diabetic mother. 1987: 50- 60 and 118- 124. **Ross Laboratories, USA**.
Library of congress catalog card No. 87-50813
183. Rice M J, McDonald R W, Reller M D, Sahn D J. Pediatric echocardiography: Current role and a review of technical advances. **The Journal of Pediatrics**. 1996; **128**(1): 1-14
184. Rizzo G, Arduini D, Romanini C. Fetal cardiac function in fetuses of type I diabetic mothers. **American Journal of Obstetric and Gynecology**. 1991; **164**: 837-843
185. Rizzo G, Arduini D, Romanini C. Accelerated cardiac growth and abnormal cardiac flow in fetuses of type I diabetic mothers. **Obstetric & Gynecology**. 1992; **80**(3): 369-376
186. Rosenfeld R G, Albertsson-Wikland K, Cassorla F, Frasier S D, Hasegawa Y, Hintz R L, Lafranchini S, Lippe B, Loriaux L, Melmed S, Preece M A, Ranke M B, Reiter E O, Rogol A D, Underwood L E, Werther

- G A. Diagnostic controversy: The diagnosis of childhood growth hormone deficiency revisited. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. 1995; **80**(6): 1532-1540
187. Rosenn B, Miodovnik M, Combs Andrew C, Williams T, Wittekind C, Siddiqi T A. Human versus animal insulin in the management of insulin-dependent diabetes: Lack of effect on fetal growth. **Obstetric & Gynecology**. 1991; **78**(4): 590-593
188. Rotwein P. Structure, evolution, expression and regulation of insulin growth factors I and II. **Growth Factor**. 1991; **5**: 3- 18
189. Rowland T W, Hubbell J P J, Nadas A S. Congenital heart disease in infants of diabetic mothers. **The Journal of Pediatrics**. 1973; **83**(5): 815-820
190. Rudolph A M. The changes in the circulation after birth. **Circulation**. 1970; **41**: 343-359
191. Ryan J, Mantle T, Costigan C. A normal population study of human salivary insuli-like growth factor 1(IGF1) concentrations from birth through puberty. **Endocrinology and Metabolism**. 1992; **74**: 774-778
192. Sahn D J, DeMaria A, Kisslo J, weyman A. The committe on M-mode standardization of the American Society of Echocardiography. Recomendations regarding quantitation in M-mode ecocardiography:

- results of a survey of echocardiographic measurements. **Circulation**. 1978; **589**(6): 1072-1083
193. Saini J, Morgan J B, Teale D, Kovar I Z. Twin very low birth weight infants: A study of nutritional and hormonal status. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**. 1990; **14**: 657-659
194. Salardi S, Orsini L F, Cacciari E, Righetti F, Donati S, mandini M, Cicognani A, Boviceli L. Growth hormone, insuline-like growth factor I, insulin and C peptide during human fetal life: In-utero study. **Clinical Endocrinology**. 1991; **34**: 187-190
195. Salmon W D, Daughaday W H. hormonally controled serum factor which stimulates incorporation by cardtilage in vivo. **Journal of Laboratory Clinical Medicine**. 1957; **49**: 825-836
196. Savage D, Henry W, Eastman R, Borer J, Gorden P. Echocardiographic assesment of cardiac anatomy and function in acromegalic patients. **The American Journal of Medicine**. 1979; **67**: 823-829
197. Scãffer L, Larsen U D, Linde S, Hejnaes K R, Skriver L. Characterization of the three I-iodination isomers of human insulin-like growth factor-I (IGF1). **Biochimica et Biophysica Acta**. 1993; **1203**(2): 205-209
198. Schmidt W, Dore S, Hilgendorf F A, Strauch S, Gareau R, Brisson G R. Effects of exercise during normoxia and hypoxia on the growth hormone-

- insulin-like growth factor- I axis. **European Journal of Applied Physiology**. 1995; **71**(5): 424-430
199. Scott M G, Cuca G C, Petersen J R, Lyle L R, Burieigh B D, Daughaday W H. Specific immunoradiometric assay of insulin-like growth factor I with use of monoclonal antibodies. **Clinical Chemistry**. 1987; **33**(11): 2019-2023
200. Sell C, Dumenil G, Deveaud C, Miura M, Coppola D, Deangelis T, Rubin R, Efstratiadis A, Baserga R. Effect of a null mutation of the insulin-like growth factor I receptor gene on growth and transformation of mouse embryo fibroblasts. **Molecular and Cellular Biology**. 1994; **14**(6): 3604-3612
201. Shin S-U, Friden P, Moran M, Morrison S L. Function properties of antibody insulin-like growth factor fusion proteins. **The Journal of Biological Chemistry**. 1994; **269**(7): 4979-4985
202. Shub C, Klein A L, Zachariah P K, bailey K R, Tajik A J. Determination of left ventricular mass by echocardiography in normal population: Effects of age and sex in addition to body size. **Mayo Clinic Proceedings**. 1994; **69**: 205-211
203. Simone G, Daniels S R, Devereux R B, Meyer R A, Roman M J, Divitiis O, Alderman M H. Left ventricular mass and body size in normotensive children and adults: Assesment of allometric relations and impact of

- overweight. **Journal of American College of Cardiology**. 1992; **20**: 1251-1260
204. Spellacy W N, Miller S, Winegar A, Peterson P Q. Macrossomia-- Maternal characteristics and infant complications. **Obstetrics & Gynecology**. 1985; **66**: 158-161
205. Spirito P, Maron B J, Bonow R O. Noninvasive assesment of left ventricular diastolic function: Comparative analysis of doppler echocardiographyc and radionuclide angiographic techniques. **Journal of The American College of Cardiology**. 1986; **7**(3): 518-526
206. Steinh J, Driscoll S G. The extractable insulin content of pancreas for fetus and infants of diabetic and insulin content of pancreas for fetus and infants of diabetic and control mothers. **Diabetes**- 1965. **14**: 573-577
207. Stenninger E, Schollin J S, Aman J. Neonatal macrossomia and hypoglicaemia in children of mothers with insulin-treated gestacional diabetes mellitus. **Acta Paediatrica Scandinavian**. 1991; **80**: 1014-1018
208. Susa J, Schwartz R. Effects of hyperinsulinemia in the primate fetus. **Diabetes**. 1985; **34**(suppl2): 36-41
209. Sutton S J M G, Haghler D J, Tajik A J, Giuliani E R, Seward J B, Ritter D G, Ritman E L. Cardiac function in the normal newborn. **Circulation**. 1978; **57**(6). 1198-1204

-
210. Taniguchi T, Sullivan M J, Ogawa O, Reeve A E. Epigenetic changes encompassing the IGF2/H19 locus associated with relaxation of IGF2 imprinting and silencing of H19 in Wilms tumor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.** 1995; **92(6):** 2159-2163
211. Thomas G A, Davies H G, Williams D. Site of reproduction of IGF1 in the normal and stimulated mouse thyroid. **Journal of pathology.** 1994; **173:** 355-360
212. Upton Z, Chant S J, Steiner D F, Wallace J C, Ballard F J. Evolution of insulin-like growth factor binding proteins. **Growth Regulation.** 1993; **3(1):** 29-32
213. Van Gurp R J H L M, Oosterhuis J W, Kalsscheuer V, Mariman C M, Looijenga L H J. Biallelic expression of the H 19 and IGF2 genes in human testicular germ cell tumors. **Journal of the National Cancer Institute.** 1994; **86(14):** 1070-1075
214. Varmuza S, Mann M. Genomic imprinting-defusing the ovarian time bomb. **Trends in Genetics.** 1994; **10(4):** 118-123
215. Vijayakumar M, Fall C H D, Osmond C, barker D J P. Birth weight at one year and left ventricular mass in adult life. **British Heart Journal.** 1995; **73:** 363-367

-
216. Vogt A, Kluge A, Zimmermann R, Schöper W. Insulin-like growth factor II delays myocardial infarction in experimental coronary artery occlusion. **Cardiovascular Research**. 1993; **33**(2): 469-477
217. Vu T H, Hoffman A R. Promoter-specific imprinting of the human insulin-like factor-II gene. **Nature International Weekly Journal of Science**. 1994; **371**(6499): 714-717
218. Vu T H, Yballe C, Boonyanit S, Hoffman A. Insulin-like growth factor II in uterine smooth-muscle tumors: Maintenance of genomic imprinting in leiomyomata and loss of imprinting in leiomyosarcoma. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. 1995; **80**: 1670-1676
219. Wähländer H, Isgaard J, Jennische E, Friberg P. Left ventricular insulin-like growth factor I increases in early hypertension. **Hypertension**. 1992; **19**(1): 25-32
220. Walsh C, Miller S, Flam F, Fisher R A, Ohlsson R. Paternally derived H19 is differentially expressed in malignant and nonmalignant trophoblast. **Cancer Research**. 1995; **55**: 1111-1116
221. Wang H S, Lim J, English J, Irvine L, Chard T. The concentration of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-binding protein-1 in human umbilical cord serum at delivery: Relation to fetal weight. **Journal of Endocrinology**. 1991; **129**: 459-464

-
222. Wang Q, Dills D G, Klein R, Klein B E K, Moss E S. Does insulin-like growth factor I predict incidence and progression of diabetic retinopathy? **Diabetes**. 1995; **44**: 161-164
223. Wang Z-I, Fung M R, Barlow D P, Wagner E F. Regulation of embryonic growth and lysosomal targeting by the imprinted IGF2/ Mpr gene. **Nature**. 1994; **372**(1): 464-467
224. Way G L, Ruttenberg H D, Eshaghpour E, Bender R, Jaffe R B, Ruttenberg H. Hypertrophic obstructive cardiomyopathy in infants of diabetic mothers. **Circulation**. 1976; **54**: 105 (abstract)
225. Way G L, Wolfe R, Eshaghpour E, Bender R, Jaffe R B, Ruttenberg H. The natural history of hypertrophic cardiomyopathy in infants of diabetic mothers. **The Journal of Pediatrics**. 1979; **95**(6): 1020-1025
226. Weber H S, Copel J A, Reece A, Green J, Kleinmam C. Cardiac growth in fetuses of diabetic mothers with good metabolic control. **The Journal of Pediatrics**. 1991; **118**: 103-107
227. Weiss P, Pürstner P, Winter R, Lichtenegger W. Insulin levels in amniotic fluids of normal and abnormal pregnancies. **Obstetrics and Gynecology**. 1984; **63**: 771-775

-
228. Wessel A. Normal values of two-dimensional echocardiographic evaluation of left and right ventricular geometry in children. **Herz**. 1985; **10(4)**: 248-254
229. White P. A different approach of neonatal care. **American Journal of Medicine**. 1949; **7**: 609-613
230. Yakovack W C. Beta cell nesidioblastosis in idiopathic hypoglycemia of infancy. **The Journal of Pediatrics**. 1971; **79**: 226-231
231. Yunoki H, Yagi H, Nagashima K, Noji T, Miyake H, Kurome T. N-terminal propeptide of type-III procollagen concentrations in the cord blood: An index of newborn maturity. **Biology of Neonate**. 1990; **58**: 264-270
232. Zapf J, Walter H, Froesch E R. Radioimmunological determination of insulin-like growth factors I and II in normal subjects and in patients with growth disorders and extrapancreatic tumor hypoglycemia. **Journal of Clinical Investigation**. 1981; **68**: 1321-1330
233. Zhan S, Shapiro D N, Helman L J. Activation of an imprinted allele of the insulin-like growth factor II gene implicated in rhabdomyosarcoma. **The Journal of Clinical Investigation**. 1994; **94**: 445-448
234. Zhou J B, Bondy C. Insulin-like growth factor-II and its binding proteins in placental development. **Endocrinology**. 1992; **131(3)**: 1230-1240

-
235. Zielinsky P. Role of prenatal echocardiography in the study of Hypertrophic cardiomyopathy in the fetus. **Echocardiography: A Journal of Cardiovascular Ultrasound and Allied Techniques**. 1991; **8**(6): 661-667
236. Zielinsky P, Hagemann L L, Daudt L E, Behle I. Pre- and postnatal analysis of factors associated with fetal myocardial hypertrophy in diabetic pregnancies. **Journal of Maternal-Fetal Investigation**. 1992; **2**: 163-167
237. Zielinsky P, Costa M H L, Oliveira L T, Bonow F P, Silva N I T, Hagemann L L. Estudo da história natural da hipertrofia miocárdica e sua associação com hiperinsulinismo em filhos de mães diabéticas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. 1997; **69**(6): 1-6.

ANEXO

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA:

Participante _____

Investigador principal: Patrícia M. Barrios

Título do Projeto: "Estudo da hipertrofia cardíaca no recém-nascido macrossômico de mãe diabética e sua relação com os níveis séricos dos fatores de crescimento semelhantes à insulina".

Número de aprovação no comitê de ética _____

1: Eu fui solicitado (a) a dar permissão para a participação do (a) meu filho (a) em um projeto de pesquisa conduzido pela doutora Patrícia Martins Moura Barrios. O objetivo deste estudo é:

VERIFICAR SE EXISTE ASSOCIAÇÃO ENTRE MACROSSOMIA E HIPERTROFIA CARDÍACA EM RECÉM-NASCIDOS E VERIFICAR SE EXISTE ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DOS FATORES DE CRESCIMENTO SEMELHANTES À INSULINA E HIPERTROFIA CARDÍACA EM RECÉM-NASCIDOS.

2. A participação do (a) meu filho (a) envolverá os seguintes procedimentos:

REALIZAÇÃO DE EXAME ECOCARDIOGRÁFICO COM DOPPLER.
REALIZAÇÃO DE UMA VENOPUNCTURA, SACANDO UM TOTAL DE
APROXIMADAMENTE 1 ML DE SANGUE.

3. Eu entendo que certo desconforto e risco podem estar associados a venopunctura.

RETIRAR SANGUE COM UMA AGULHA PODE SER DOLOROSO. EU ENTENDO QUE O SANGUE SERÁ COLETADO DA MESMA MANEIRA COMO É COLETADO PARA EXAMES DE ANEMIA E ESTE PROCEDIMENTO PRATICAMENTE NÃO CAUSA PROBLEMAS.

4. Eu entendo que os possíveis benefícios que meu filho (a) pode obter desta pesquisa são:

DIAGNÓSTICO PRECOCE DA CARDIOPATIA HIPERTRÓFICA.
DIAGNÓSTICO PRECOCE DE CARDIOPATIA CONGÊNITA, SE PRESENTE.

5. Eu posso escolher não permitir que meu filho (a) participe deste projeto de pesquisa sem que isto altere a dedicação e a qualidade do atendimento clínico que este deva receber.

Responsável pelo recém-nascido

Médico responsável

NOME:

IDADE: SEXO: RAÇA: DATA NASC:
APGAR: PARTO: IG: PESO:
COMPRIM: PERCENTIL: CLASSIFICAÇÃO:
PESO/COMP: PC: PT: CIRC ABD:

ECOCARDIOGRAMA:

SIV: PPVE: DDVE: DSVE:
SIV/PPVE: FE: FE(FS):
E: A: E/A: TD: RIV:

PLASMA:

IGF1: IGF2: GLUCOSE:

MÃE:

Nº VISITAS PRÉ-NATAIS: TTG: DG: INSULINA:
PESO INICIAL GESTAÇÃO: PESO FINAL GEST:
ESTATURA:
IGF1: IGF2: