

# Efeito do diabetes materno na prole feminina

## Effect of maternal diabetes on female offspring

Juliana de Oliveira Martins<sup>1</sup>, Maurício Isaac Panício<sup>1</sup>, Marcos Paulo Suehiro Dantas<sup>1</sup>,  
Guiomar Nascimento Gomes<sup>1</sup>

### RESUMO

**Objetivo:** Avaliar o efeito do diabetes materno sobre a pressão arterial e a função renal da prole feminina, bem como verificar se as alterações observadas se exacerbam durante a prenhez. **Métodos:** O *diabetes mellitus* foi induzido em ratas com a administração de estreptozocina em dose única, uma semana antes do cruzamento. Durante a prenhez, foram feitas medidas da pressão arterial por pletismografia. No 20º dia da prenhez, os animais foram colocados durante 24 horas em gaiolas metabólicas para obtenção de amostras de urina. Após a retirada dos animais das gaiolas, foram obtidas amostras de sangue. Um mês após a prenhez, foram obtidas novas amostras de sangue e urina para as determinações. A função renal foi avaliada por meio de proteinúria, ureia plasmática, creatinina plasmática, carga excretada de creatinina, fluxo urinário e *clearance* de creatinina. **Resultados:** As fêmeas da prole de mães diabéticas apresentaram elevação da pressão arterial e redução do ritmo de filtração glomerular em relação ao grupo controle. **Conclusão:** A hiperglicemia durante a gestação foi capaz de causar elevação da pressão arterial e disfunção renal na prole de sexo feminino.

**Descritores:** Prenhez; Desenvolvimento fetal; Diabetes mellitus experimental; Hipertensão; Ureia; Creatinina; Estreptozocina/administração & dosagem

### ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the effect of maternal diabetes on the blood pressure and kidney function of female offspring, as well as if such changes exacerbate during pregnancy. **Methods:** *Diabetes mellitus* was induced in female rats with the administration of streptozotocin in a single dose, one week before mating. During pregnancy, blood pressure was measured through plethysmography. On the 20th day of pregnancy, the animals were placed for 24 hours in metabolic cages to obtain urine samples. After the animals were removed from the cages, blood samples were withdrawn. One month after pregnancy, new blood and

urine sample were collected. Kidney function was evaluated through proteinuria, plasma urea, plasma creatinine, creatinine excretion rate, urinary flow, and creatinine clearance. **Results:** The female offspring from diabetic mothers showed an increase in blood pressure, and a decrease in glomerular filtration rate in relation to the control group. **Conclusion:** Hyperglycemia during pregnancy was capable of causing an increase in blood pressure and kidney dysfunction in the female offspring.

**Keywords:** Pregnancy, animal; Fetal development; Diabetes mellitus, experimental; Hypertension; Urea; Creatinine; Streptozocin/administration & dosage

### INTRODUÇÃO

Modificações durante o desenvolvimento embrionário têm sido associadas ao desenvolvimento de hipertensão arterial e de alterações na função renal em modelos experimentais, em que algumas alterações, como desnutrição intrauterina, indução de *diabetes mellitus* e restrição de sono, foram impostas durante o período de prenhez.<sup>(1-3)</sup>

Em modelos experimentais que mimetizam o diabetes gestacional ou o diabetes tipo 1, verificou-se que os filhos de mães diabéticas, quando adultos, apresentam hipertensão arterial e menor taxa de filtração glomerular, bem como reduzida capacidade em excretar sódio, quando submetidos a uma sobrecarga desse íon.<sup>(2,4-6)</sup> Além disso, o estudo do córtex renal apontou aumento da expressão de canais de sódio epiteliais (ENaC) e sódio/potássio ATPase (Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase), sem redução de trocador sódio/hidrogênio (NHE3) ou outros trans-

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Autor correspondente: Juliana de Oliveira Martins – Universidade Federal de São Paulo, Rua Botucatu, 862, 5º andar – Edifício Ciências Biomédicas – Vila Clementino – CEP: 04023-062 – São Paulo, SP, Brasil – Tel.: (11) 5576-4513 – E-mail: juliana\_omartins@hotmail.com

Data de submissão: 30/6/2014 – Data de aceite: 22/10/2014

Conflitos de interesse: não há.

DOI: 10.1590/S1679-45082014AO3200

portadores de sódio, sugerindo que a retenção de sódio deveu-se à reabsorção aumentada em segmentos distais do néfron. Recentemente, Aceti et al.<sup>(7)</sup> realizaram uma revisão sistemática e metanálise de estudos relatando hipertensão arterial em crianças nascidas de mães diabéticas e confirmaram que filhos de mães diabéticas têm pressão arterial (PA) maior do que os controles.

Ainda em modelos experimentais, demonstrou-se que a exposição à hiperglicemia durante o período fetal prejudica a nefrogênese.<sup>(4)</sup> Estudos anteriores de nosso laboratório mostraram que filhotes machos de ratas induzidas ao *diabetes mellitus* desenvolvem hipertensão arterial precoce, sem a alteração do número de néfrons. Nesses animais, a diminuição da resposta vasodilatadora dependente de endotélio observada no leito mesentérico parece contribuir para o desenvolvimento da hipertensão arterial. A suplementação dos animais com L-arginina foi capaz de prevenir o desenvolvimento da hipertensão, confirmando a participação do sistema do óxido nítrico nesse modelo experimental.<sup>(8)</sup> Entretanto, a maior parte desses estudos foi realizada em animais do sexo masculino.

O aumento da PA é o principal fator de risco para doenças cardíacas, acidente vascular cerebral e doenças renais. Estima-se que uma em cada seis pessoas no mundo seja hipertensa e espera-se que esse número aumente para 1,5 bilhão em 2025.<sup>(9)</sup> No Brasil, a prevalência da hipertensão está entre 5 e 30%, dependendo da área estudada.<sup>(10)</sup> Embora a prevalência da hipertensão arterial seja maior nos homens, a prevalência em mulheres não é insignificante. Acredita-se que cerca de 30% das mulheres da população mundial sejam hipertensas.<sup>(11)</sup> O aumento da obesidade em mulheres jovens nos países desenvolvidos e em alguns países em desenvolvimento também é um dado preocupante, uma vez que deve contribuir para o aumento da incidência de diabetes em mulheres grávidas.

## OBJETIVO

Avaliar se fêmeas provenientes da prole de mães diabéticas apresentaram alterações da função renal e hipertensão arterial, além de verificar se essas alterações se acentuam durante a prenhez.

## MÉTODOS

Machos e fêmeas Wistar, obtidos no Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais para Medicina e Biologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), foram alojados em gaiolas plásticas coletivas e mantidos com livre acesso a ração e água.

Para obtenção dos filhotes de mães diabéticas, fêmeas Wistar foram induzidas ao *diabetes mellitus* com a administração de estreptozotocina em dose única (60mg/kg ip.) 1 semana antes do cruzamento. Dois dias após a administração de estreptozotocina, a glicemia foi determinada com o aparelho *Advantage II* (Boehringer, Mannheim, Alemanha) do sangue da veia caudal. Consideraram-se diabéticas as ratas cujos valores de glicemia foram  $\geq 250$ mg/dL. Após o nascimento dos filhotes controles e de mães diabéticas, as proles foram reduzidas a seis filhotes, que permaneceram com as mães até o desmame (aos 28 dias). Após essa etapa, os filhotes foram colocados em gaiolas coletivas. Aos 2 meses e 15 dias de idade, os animais foram treinados para entrar no cilindro de contenção para as medidas de PA pelo método indireto de pletismografia. Após a obtenção de valores estáveis de PA, as fêmeas foram colocadas para cruzar. O dia 1 de prenhez foi considerado como o dia em que a prenhez foi confirmada por meio do esfregaço vaginal. Os valores de PA também foram obtidos ao longo da prenhez.

No 20º dia da prenhez, os animais foram colocados durante 24 horas em gaiolas metabólicas (Criffa, Barcelona, Espanha), para obtenção de amostras de urina, para a determinação da excreção de creatinina e proteinúria. Após a retirada dos animais das gaiolas metabólicas, foram obtidas amostras de sangue para dosagem de creatinina e ureia. Um mês após o nascimento das proles, as ratas foram colocadas novamente em gaiola metabólicas para novas determinações da função renal e, posteriormente, sacrificadas.

Este trabalho foi realizado no período de julho de 2013 a julho de 2014, com a aprovação número 0048/12 do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIFESP. O Termo de Consentimento Livre Esclarecido não se aplicou.

## Estudo da função renal

Para o estudo da função renal, foram avaliadas as concentrações plasmáticas de ureia e de creatinina, e a concentração urinária de creatinina. Foi calculado o *clearance* de creatinina como um índice do ritmo de filtração glomerular. As concentrações plasmáticas e urinárias de creatinina foram determinadas por método colorimétrico. Para o cálculo do *clearance* usamos a fórmula:

$$Cl = \frac{[U] \times V}{[P]}$$

Onde Cl indica *clearance* de creatinina; U, concentração urinária de creatinina; P, concentração plasmática de creatinina; e V, fluxo urinário.

O método utilizado para a determinação da proteína foi o de precipitação com ácido sulfossalicílico.

### Estudo morfológico

Os rins de fêmeas controles e filhotes de mães diabéticas não prenhez aos 3 meses foram dissecados, limpos de tecido conectivo, pesados, cortados longitudinalmente e fixados em Bouin. Foram feitos cortes histológicos de 5 $\mu$ m, os quais foram corados com técnica de hematoxilina e eosina e Verhoeff. As imagens foram adquiridas em microscópio Nikon® conectado a um microcomputador. A análise das imagens foram feitas em simples cego.

Em cada lâmina corada pela hematoxilina e eosina foram obtidas 20 imagens (campos) sequenciais, iniciando a partir do hilo e percorrendo o córtex renal, sendo analisados a área glomerular e o número de glomerulos por campo.

A fim de avaliar a espessura arteriolar, em cada lâmina corada por Verhoeff, foram analisadas 12 arteríolas, das quais se obtiveram 4 medidas de espessura por arteríola.

### Análise estatística

Para a análise estatística, empregaram-se os testes *t* não pareado e de Análise de Variância *one-way* (*one-way* ANOVA), seguidos pelo teste Bonferroni. Foi definido como estatisticamente significativo  $p \leq 0,05$ . Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão.

## RESULTADOS

A tabela 1 apresenta os valores médios da pressão arterial sistólica medidos ao longo do período de prenhez nos grupos controle e de filhotes de mães diabéticas, como também a média da PA anterior a esse período (Figura 1).

Os parâmetros de função renal ao 20º dia de prenhez mostraram que o grupo de filhotes de mães diabéticas apresentou redução do *clearance* de creatinina e aumento da concentração plasmática de ureia, contudo não houve redução significativa da carga excretada de creatinina (Figura 2 e Tabela 2).

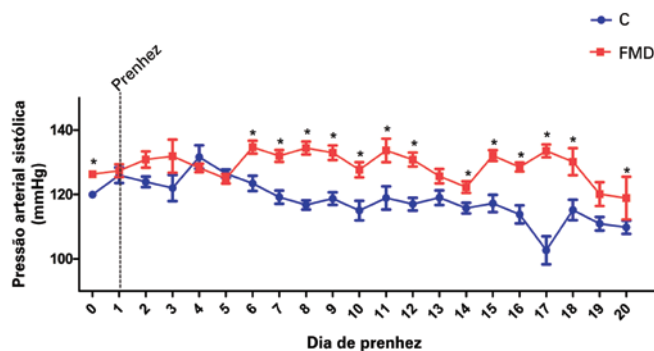
A reavaliação da função renal após um mês também demonstrou redução do *clearance* de creatinina em fêmeas filhotes de mães diabéticas (Figura 3 e Tabela 3).

Comparando ratas controles e filhotes de mães diabéticas não prenhez aos 3 meses, foi observado um comprometimento da função renal evidenciado pelo aumento da concentração plasmática de ureia, o qual,

**Tabela 1.** Valores médios de pressão arterial sistólica (em mmHg) medidas ao longo do período de experimentação nos grupos controle e de filhotes de mães diabéticas

Dia de prenhez	Controle	Filhotes de mães diabéticas
Antes da prenhez	119,98 $\pm$ 1,07 (44/11)	127,39 $\pm$ 1,09 (55/13)
Dia 1	125,97 $\pm$ 2,40 (33/11)	130,85 $\pm$ 1,98 (38/10)
Dia 2	123,92 $\pm$ 1,65 (24/7)	131,90 $\pm$ 2,51 (40/10)
Dia 3	122,00 $\pm$ 4,08 (7/2)	128,25 $\pm$ 5,12 (20/5)
Dia 4	131,63 $\pm$ 3,62 (8/2)	124,90 $\pm$ 1,33 (8/2)
Dia 5	126,50 $\pm$ 1,28 (26/8)	134,68 $\pm$ 1,47 (20/5)
Dia 6	123,44 $\pm$ 2,38 (27/8)	131,97 $\pm$ 2,00 (39/11)
Dia 7	119,17 $\pm$ 2,06 (30/10)	134,42 $\pm$ 1,86 (39/10)
Dia 8	116,75 $\pm$ 1,45 (32/10)	132,96 $\pm$ 2,00 (30/10)
Dia 9	118,72 $\pm$ 1,93 (25/7)	127,67 $\pm$ 2,28 (26/7)
Dia 10	115,00 $\pm$ 3,03 (12/4)	133,67 $\pm$ 2,35 (21/6)
Dia 11	118,93 $\pm$ 3,58 (14/4)	130,84 $\pm$ 3,63 (15/4)
Dia 12	117,00 $\pm$ 1,99 (27/8)	125,70 $\pm$ 2,18 (31/8)
Dia 13	119,00 $\pm$ 2,27 (22/7)	122,26 $\pm$ 2,21 (37/10)
Dia 14	115,76 $\pm$ 1,64 (29/8)	132,06 $\pm$ 1,79 (35/10)
Dia 15	117,21 $\pm$ 2,66 (34/10)	128,52 $\pm$ 1,70 (40/11)
Dia 16	113,84 $\pm$ 2,80 (19/6)	133,52 $\pm$ 1,41 (27/10)
Dia 17	102,67 $\pm$ 4,33 (3/1)	130,17 $\pm$ 2,00 (14/7)
Dia 18	115,18 $\pm$ 3,18 (11/3)	120,13 $\pm$ 4,19 (12/4)
Dia 19	110,93 $\pm$ 2,10 (28/8)	118,88 $\pm$ 3,68 (16/7)
Dia 20	109,84 $\pm$ 2,06 (25/7)	127,39 $\pm$ 6,67 (12/6)
Média geral	118,26	128,91

Valores apresentados como média  $\pm$  erro padrão (número de medidas/número de animais).

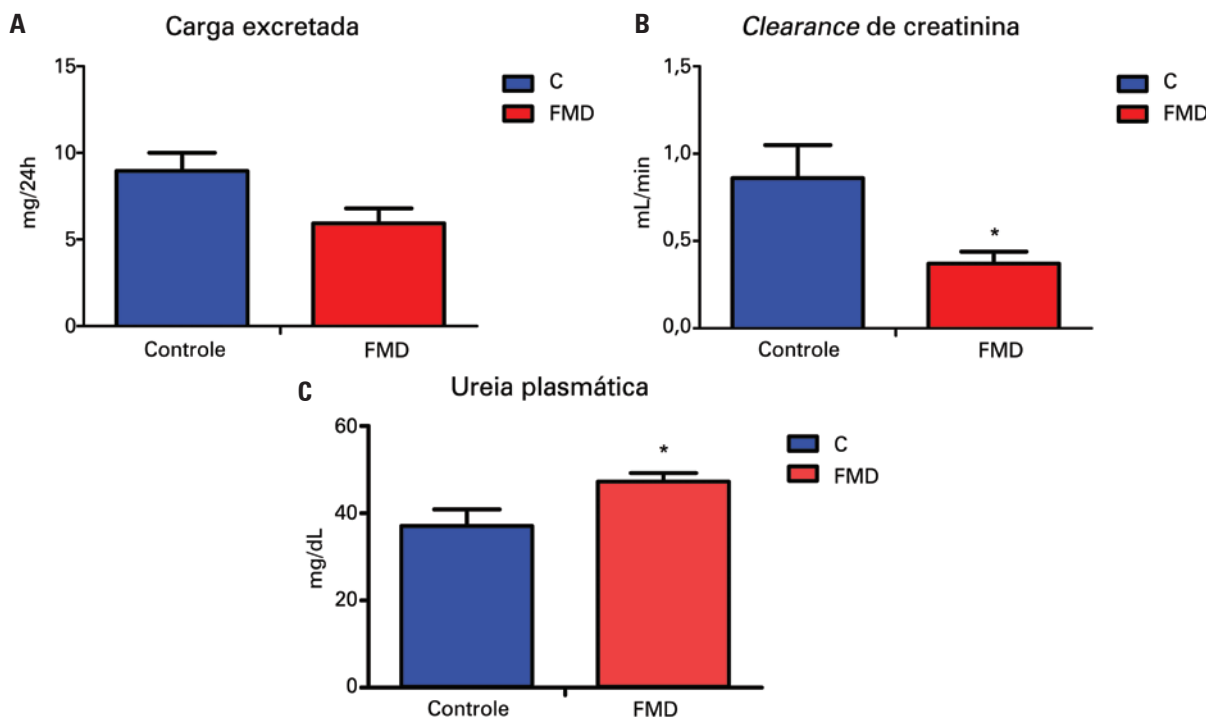


C: grupos controle; FMD: filhotes de mães diabéticas.

**Figura 1.** Pressão arterial sistólica (em mmHg) ao longo do período de prenhez em grupos controle e de filhotes de mães diabéticas. Valor de  $p \leq 0,05$  versus C

como vimos anteriormente, exacerba-se com o estado de prenhez (Figuras 4A, 4B, 4C e Tabela 4).

A análise da morfometria renal em hematoxilina e eosina não mostrou diferença estatística em área glomerular e nos números de glomerulos nessas ratas aos 3 meses (Figuras 4D, 4E e 4F). A avaliação da espessura arteriolar em Verhoff também não revelou diferença entre os grupos (Figura 4G e 4H).



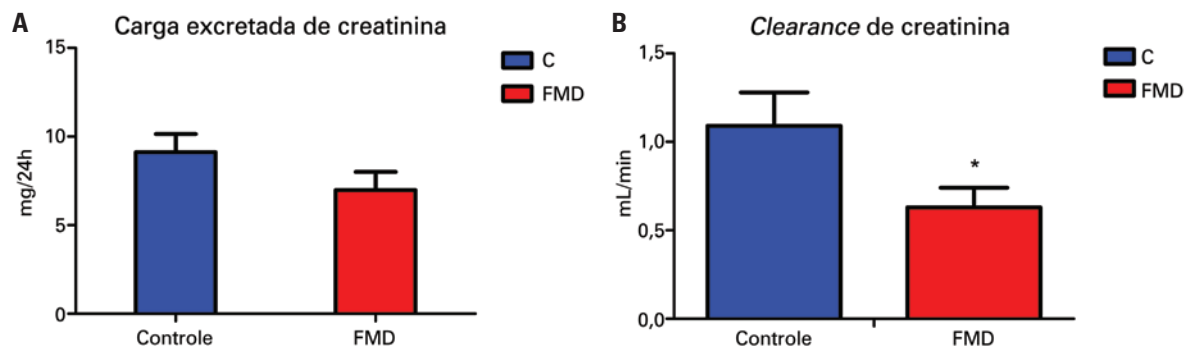
C: ratos controles; FMD: filhotes de mães diabéticas.

**Figura 2.** Função renal de ratos controles e filhotes de mães diabéticas ao 20º dia de prenhez. (A) Carga excretada de creatinina; (B) *clearance* de creatinina; (C) concentração de ureia no plasma. \*Valor de  $p \leq 0,05$  versus C

**Tabela 2.** Parâmetros de função renal no 20º dia da prenhez

	Proteinúria (mg/24h)	Ureia plasmática (mg/dL)	Creatinina plasmática (mg/mL)	Carga excretada de creatinina (mg/24h)	Clearance de creatinina (mL/min)	Fluxo urinário (mL/24h)
Controles	2,17±0,38 (11)	37,09±3,78 (13)	1,20±0,25 (10)	8,96±1,05 (15)	0,86±0,19 (10)	11,70±0,87 (15)
Filhotes de mães diabéticas	1,95±0,37 (11)	47,26±1,9* (14)	1,02±0,10 (9)	5,93±0,87 (10)	0,37±0,07* (8)	11,90±0,62 (15)

\*Valor de  $p \leq 0,05$  versus controle. Valores apresentados como média ± erro padrão (n).



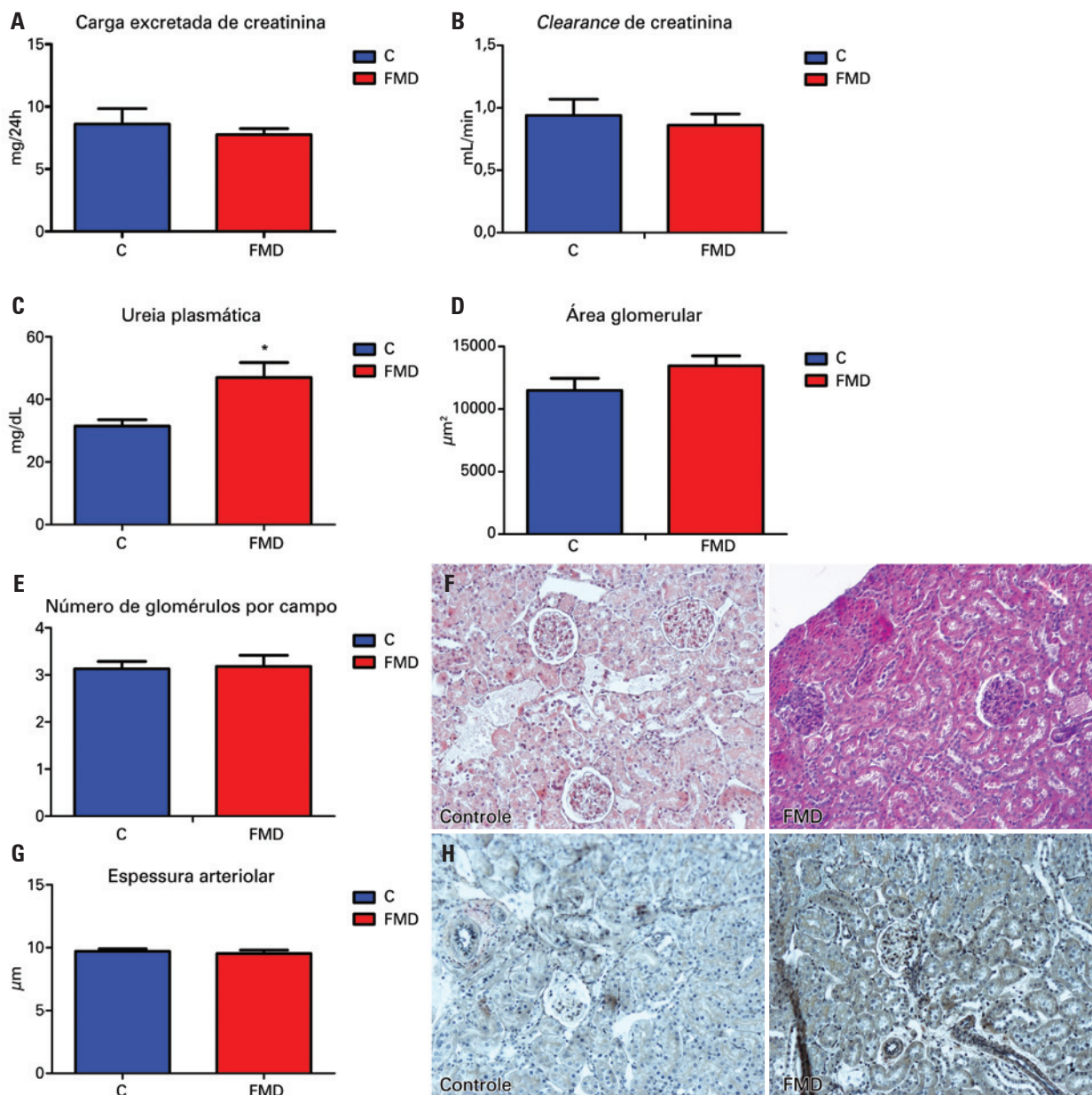
C: ratos controles; FMD: filhotes de mães diabéticas.

**Figura 3.** Função renal de ratos controles e filhotes de mães diabéticas 1 mês após período de prenhez. (A) Carga excretada de creatinina; (B) *clearance* de creatinina. \*Valor de  $p \leq 0,05$  versus controle

**Tabela 3.** Parâmetros de função renal 1 mês após a prenhez

	Proteinúria (mg/24h)	Ureia plasmática (mg/dL)	Creatinina plasmática (mg/dL)	Carga excretada de creatinina (mg/24h)	Clearance de creatinina (mL/min)	Fluxo urinário (mL/24h)
Controles	0,93±0,28 (9)	53,85±5,84 (12)	0,74±0,13 (12)	9,12±1,02 (12)	1,09±0,19 (12)	11,99±0,99 (12)
Filhotes de mães diabéticas	0,96±0,27 (11)	41,33±1,95 (12)	0,86±0,07 (12)	6,98±1,02 (12)	0,63±0,11* (12)	11,50±0,84 (12)

\*Valor de  $p \leq 0,05$  versus controle. Valores apresentados como média ± erro padrão (n).



C: ratos controles; FMD: filhotes de mães diabéticas.

**Figura 4.** Ratos controles e filhotes de mães diabéticas não prenhez aos 3 meses. Função renal: (A) carga excretada de creatinina; (B) *clearance* de creatinina; (C) ureia plasmática. Morfologia renal: (D) área glomerular; (E) número de glomérulos por campo adquirido; (F) fotomicrografias de cortes histológicos em hematoxilina e eosina; (G) espessura arteriolar; (H) fotomicrografias de cortes histológicos em Verhoeff. \* $p \leq 0,05$  versus controle

**Tabela 4.** Parâmetros de função renal de ratas não prenhez aos 3 meses

	Proteinúria (mg/24h)	Ureia plasmática (mg/dL)	Creatinina plasmática (mg/dL)	Carga excretada de creatinina (mg/24h)	Clearance de creatinina (mL/min)	Fluxo urinário (mL/24h)
Controles	1,17 $\pm$ 0,28 (4)	31,45 $\pm$ 2,10 (8)	0,80 $\pm$ 0,15 (5)	8,61 $\pm$ 1,24 (8)	0,94 $\pm$ 0,13 (5)	7,96 $\pm$ 1,09 (9)
Filhotes de mães diabéticas	0,68 $\pm$ 0,11 (2)	46,98 $\pm$ 4,7* (6)	0,67 $\pm$ 0,08 (6)	7,76 $\pm$ 0,48 (7)	0,86 $\pm$ 0,09 (6)	9,50 $\pm$ 0,51 (7)

\*Valor de  $p \leq 0,05$  versus controle. Valores apresentados como média $\pm$ erro padrão (n).

## DISCUSSÃO

Observou-se, no presente trabalho, que a prole feminina desenvolveu pré-hipertensão e, mesmo não apresentando elevados níveis pressóricos como a prole do

sexo masculino, as ratas expostas à hiperglicemia intraútero já apresentaram alterações precoces da função renal, as quais se tornam mais evidentes com o estado de prenhez.

No estudo de Magaton et al.,<sup>(12)</sup> houve elevação da PA e redução do ritmo de filtração glomerular em ratos machos de 3 meses da prole de ratas diabéticas. Neste trabalho, não se evidenciou redução do número de néfrons, mas houve hipertrofia glomerular precoce, a qual não se confirmou em nossa avaliação nas ratas de mesma idade. Os ratos machos filhotes de mães diabéticas apresentaram PA elevada; desse modo, é possível que os elevados níveis pressóricos sejam transmitidos aos glomérulos, causando hipertrofia. Nas fêmeas filhotes de mães diabéticas, os valores de PA não foram tão elevados e, por isso, aos 3 meses de idade, não alteraram a morfologia glomerular. Entretanto, é possível que, com o envelhecimento, as alterações sejam exacerbadas e a análise morfológica demonstre modificações, como o aumento da área glomerular e hipertrofia arteriolar.

A análise das variações de PA durante a prenhez nos dois grupos experimentais mostrou que as ratas controles apresentam valores significativamente menores que os observados no grupo de filhotes de mães diabéticas. Segundo Ferreira et al.,<sup>(13)</sup> a gestação está associada com fatores vasodilatadores sistêmicos e intrarrenais, que compensam os fatores gestacionais vasoconstritores. Em seu estudo, foram identificados aumento dos níveis de iNOS (*inducible nitric oxide synthase*), aumento da expressão do receptor AT2 de angiotensina II e do receptor LGR7 de relaxina. Nos filhotes machos de mães diabéticas, observou-se menor capacidade de síntese de óxido nítrico.<sup>(8)</sup> É possível que também nas fêmeas haja um déficit na produção desse vasodilatador, resultando em valores mais elevados de PA; entretanto, outros experimentos são necessários para confirmar essa hipótese.

Nos últimos 20 anos, houve um aumento na incidência de desordens hipertensivas durante a gestação. Isso pode ser, pelo menos em parte, associado ao aumento da obesidade e pela tendência de ter filhos mais tardiamente. Por outro lado, a gravidez exige uma adaptação complexa do sistema cardiovascular frente à diminuição da resistência vascular e ao aumento do volume sanguíneo, além de outras alterações preexistentes, que podem complicar essas adaptações. Assim, o conhecimento da predisposição para desenvolver hipertensão arterial e da disfunção renal em mulheres filhas de mães diabéticas é de grande importância. Embora não seja adequado transpor os resultados obtidos experimentalmente para a espécie humana, este estudo nos auxilia no conhecimento da repercussão do diabetes na prole durante a prenhez.<sup>(14)</sup>

Quanto aos parâmetros de função renal, observou-se que as fêmeas, assim como os machos, apresentam certo grau de disfunção renal que, associado à elevação da PA, pode vir a agravar o dano renal. Dados da literatura sugerem que a disfunção renal em filhotes de mães diabéticas também pode estar associada a anormalidades do sistema renina-angiotensina,<sup>(12,15)</sup> bem como a alterações na ativação simpática renal.<sup>(16)</sup> Outros mecanismos também podem contribuir para a elevação da PA neste modelo experimental.

## CONCLUSÃO

Fêmeas submetidas à hiperglicemia intraútero apresentaram elevação dos níveis pressóricos, assim como a prole masculina, todavia, em menor grau que os machos, além de certo grau de disfunção renal. Estes resultados, em conjunto com os dados da literatura, reforçam a necessidade de um acompanhamento rigoroso da hiperglicemia durante a gestação, visando prevenir as alterações observadas experimentalmente na prole de mães diabéticas.

## REFERÊNCIAS

1. Regina S, Lucas R, Miraglia SM, Zaladek Gil F, Machado Coimbra T. Intrauterine food restriction as a determinant of nephrosclerosis. *Am J Kidney Dis.* 2001; 37(3):467-76.
2. Rocha SO, Gomes GN, Forti AL, do Carmo Pinho Franco M, Fortes ZB, de Fátima Cavanal M, et al. Long-term effects of maternal diabetes on vascular reactivity and renal function in rat male offspring. *Pediatr Res.* 2005;58(6):1274-9.
3. Thomal JT, Palma BD, Ponzio BF, Franco Mdo C, Zaladek-Gil F, Fortes ZB, et al. Sleep restriction during pregnancy: hypertension and renal abnormalities in young offspring rats. *Sleep.* 2010;33(10):1357-62.
4. Amri K, Freund N, Vilar J, Merlet-Bénichou C, Lelièvre-Pégorier M. Adverse effects of hyperglycemia on kidney development in rats. *Diabetes.* 1999; 48(1):2240-5.
5. Rocco L, Gil FZ, da Fonseca Pletiskaitz TM, de Fátima Cavanal M, Gomes GN. Effect of sodium overload on renal function of offspring from diabetic mothers. *Pediatr Nephrol.* 2008;23(11):2053-60.
6. Nehiri T, Duong Van Huyen JP, Viltard M, Fassot C, Heudes D, Freund N, et al. Exposure to maternal diabetes induces salt-sensitive hypertension and impairs renal function in adult rat offspring. *Diabetes.* 2008;57(8):2167-75.
7. Aceti A, Santhakumaran S, Logan KM, Philipps LH, Prior E, Gale C, et al. The diabetic pregnancy and offspring blood pressure in childhood: a systematic review and meta-analysis. *Diabetologia.* 2012;55(11):3114-27. Review.
8. Cavanal Mde F, Gomes GN, Forti AL, Rocha SO, Franco Mdo C, Fortes ZB, et al. The influence of L-arginine on blood pressure, vascular nitric oxide and renal morphometry in the offspring from diabetic mothers. *Pediatr Res.* 2007; 62(2):145-50.
9. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet.* 2005; 365(9455):217-23.
10. Passos VM, Assis TD, Barreto SM. Hypertension in Brazil: estimates from population-based prevalence studies. *Epidemiol Serv Saúde.* 2006;15(1):35-45.
11. Pereira M, Lunet N, Azevedo A, Barros H. Differences in prevalence,

- awareness, treatment and control of hypertension between developing and developed countries. *J Hypertens*. 2009;27(5):963-75.
12. Magaton A, Gil FZ, Casarini DE, Cavanal Mde F, Gomes GN. Maternal diabetes mellitus -- early consequences for the offspring. *Pediatr Nephrol*. 2007;22(1):37-43.
  13. Ferreira VM, Gomes TS, Reis LA, Ferreira AT, Razvickas CV, Schor N, et al. Receptor-induced dilatation in the systemic and intrarenal adaptation to pregnancy in rats. *PLoS One*. 2009;4(3):e4845.
  14. Männistö T, Mendola P, Väärasmäki M, Järvelin MR, Hartikainen AL, Pouta A, et al. Elevated blood pressure in pregnancy and subsequent chronic disease risk. *Circulation*. 2013;127(6):681-90.
  15. Wichi RB, Souza SB, Casarini DE, Morris M, Barreto-Chaves ML, Irigoyen MC. Increased blood pressure in the offspring of diabetic mothers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005;288(5):R1129-33.
  16. de Almeida Chaves Rodrigues AF1, de Lima IL, Bergamaschi CT, Campos RR, Hirata AE, Schoorlemmer GH, et al. Increased renal sympathetic nerve activity leads to hypertension and renal dysfunction in offspring from diabetic mothers. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2013;304(2):F189-97.