

Ação Crônica do Ácido Acetilsalicílico na Prenhez da Rata

Chronic Effects of Acetylsalicylic Acid on Pregnant Rats

Sílvia Espiridião¹, Renato Ajeje², Benjamin I. Kopelman³, Manuel J. Simões²,
Joaquim Evêncio-Neto², Luiz Kulay Júnior²

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do ácido acetilsalicílico (AAS) sobre a prenhez da rata albina. Para tanto, utilizamos 60 ratas prenhes divididas ao acaso em seis grupos numericamente iguais. Todas receberam diariamente por gavagem o volume total de 1 ml, do 5º até o 20º dia de prenhez, com as seguintes características: Grupo I - somente água destilada (controle); Grupo II - solução aquosa de carboximetilcelulose 0,2% (veículo); Grupos III, IV, V e VI - respectivamente, 1, 10, 100 e 400 mg/kg de peso de AAS dissolvido em solução de carboximetilcelulose a 0,2%. Os pesos maternos foram anotados nos dias zero, 7º, 14º e 20º de prenhez. No 20º dia as matrizes foram sacrificadas. Nossos resultados mostraram diminuição do número de crias vivas a partir da administração de 100 mg/kg de AAS e também queda do ganho de peso materno, dos conceptos e placentas nas ratas tratadas com dose de 400 mg/kg por dia.

PALAVRAS-CHAVE: Ácido acetilsalicílico. Droga na gestação. Analgésicos. Placenta.

Introdução

Agente analgésico, antipirético e antiinflamatório, o ácido acetilsalicílico (AAS) tem consumo estimado da ordem de 40 mil toneladas anuais. Considerando o universo de 54 mil gestantes, pode-se dizer que 60% consumiram o

produto em algum período da gravidez¹².

O AAS ultrapassa a placenta com facilidade¹⁸. Trabalhos clínicos, no entanto, têm relatado efeitos contraditórios com relação ao binômio materno-fetal. No organismo materno são descritos efeitos adversos, como aumento da incidência de gravidez prolongada, prolongamento do trabalho de parto⁶ e hemorragias pós-parto⁷. Com relação ao concepto os achados são maior frequência do retardo de crescimento intra-uterino (RCIU), mortalidade perinatal⁴ e hemorragias dos recém-nascidos^{2,20}. Por outro lado, em circunstâncias semelhantes, Kullander e Kallen¹⁵ nada relataram.

Quanto aos trabalhos experimentais, doses variadas administradas em diversos períodos da prenhez da rata sempre revelaram efeitos adversos, como aumento do índice de malformações

¹ Departamento de Saúde Materno-Infantil da Faculdade de Medicina do ABC, São Paulo.

² Departamento de Tocoginecologia da Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina, São Paulo.

³ Departamento de Pediatria da Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina, São Paulo.

Correspondência:

Luiz Kulay Júnior

Rua Napoleão de Barros, 715, 8º andar.

Hospital São Paulo, Disciplina de Obstetrícia.

CEP 04024-002, São Paulo-SP, Brasil.

esqueléticas e do sistema nervoso central, de reabsorções e da mortalidade do concepto, a par da diminuição do peso das placentas e das crias^{1,3,9, 25}.

O objetivo deste trabalho é o de avaliar os efeitos sobre a matriz e respectivos conceptos sob doses variáveis de AAS ministradas durante toda a prenhez da rata.

Material e métodos

Animais e tratamento

Utilizamos ratas (EPM-1 Wistar), adultas, virgens, pesando de 150 a 200 g, com regime de alimentação (ração Purina-Labina) e de água à vontade. Foram inicialmente acasaladas na proporção de duas fêmeas para cada macho por um período de duas horas. O teste de prenhez foi determinado pelo encontro de espermatozóides na luz vaginal. Sessenta ratas foram então divididas ao acaso em seis grupos numericamente iguais, a saber: GI, animais que receberam água (controle); GII, animais que receberam solução aquosa de carboximetilcelulose (CMC) a 0,2% (veículo do AAS); GIII, animais tratados com 1 mg/kg de AAS (sal cedido pela BAYER do Brasil, lote nº 910191, teor de pureza de 99,5%); GIV, animais tratados com 10 mg/kg de AAS; GV, animais tratados com 100 mg/kg de AAS e GVI, animais tratados com 400 mg/kg de AAS. Em todos os grupos o AAS foi dissolvido em CMC a 0,2%. O tratamento teve início no quinto dia após a positividade do teste de prenhez (0 dia) e se estendeu até o 20º dia, sendo que cada um dos animais de qualquer dos grupos estudados recebeu diariamente sempre o volume total de 1 ml de solução, por gavagem, independente do grupo apreciado.

Todas as ratas foram pesadas nos dias 0, 7, 14 e 20 de prenhez. O ganho de peso percentual foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$D\% = (\text{peso no dia } X - \text{peso inicial}) \times 100 / \text{peso inicial}$$

onde $X = 7^\circ$ ou 14° ou 20° dia de prenhez.

Ao termo (20º dia), todos os animais foram sacrificados sob anestesia profunda com éter etílico; após laparotomia seguida de histerectomia, foram anotados os seguintes parâmetros: número de sítios de implantação e de reabsorção, número de placentas e de fetos e determinados os pesos das placentas e dos fetos.

Análise estatística

Análises paramétricas e não-paramétricas foram realizadas; o nível de rejeição para hipótese de nulidade foi fixada em 5%. Múltiplas comparações foram feitas pelo teste de Kruskal-Wallis e análise de variância.

Resultados

Os ganhos de peso das ratas foram significativamente menores nos animais que receberam doses superiores a 100 mg/kg de peso corporal por dia e podem ser vistos na Figura 1.

Quanto ao número de fetos e seus pesos individuais médios houve diminuição quando expostos a 100 e 400 mg/kg de peso por dia. O peso individual médio das placentas apresentou diminuição somente no grupo VI, que recebeu 400 mg de AAS/kg de peso durante todo o curso da prenhez (Tabela 1).

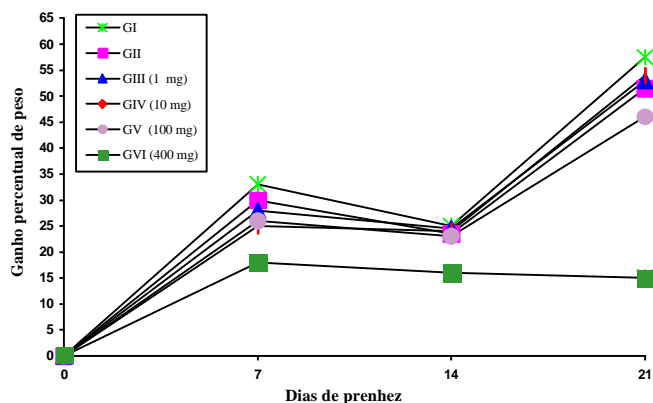


Figura 1 - Ganho de peso (g) das ratas prenhes tratadas com as várias doses de ácido acetilsalicílico. (GVI ≠ dos outros, $p < 0,05$)

Discussão

A escolha, em nosso trabalho, das doses de 1, 10 e 100 mg/kg de peso corporal por dia está relacionada às várias indicações clínicas, isto é: 1 mg/kg por dia, utilizada atualmente na prevenção da moléstia hipertensiva específica da gravidez^{22,27}; 10 mg/kg por dia, usada como analgésico e antipirético²⁹; 100 mg/kg por dia é empregada como antiinflamatório, ao passo que 400 mg/kg dia é considerada dose tóxica²¹.

Tabela 1 - Efeitos do ácido acetilsalicílico sobre os vários parâmetros estudados na rata prenhe.

	GI	GH	GIII (1 mg/kg)	GIV (10 mg/kg)	GV (100 mg/kg)	GV (400 mg)
Número de fetos vivos	96,17 ± 3,22	100,00 ± 0,00	93,33 ± 4,44	98,75 ± 1,25	80,64 ± 1,25*	57,08 ± 15,64**
Peso individual médio dos fetos (g)	03,50 ± 0,04	003,61 ± 0,04	03,36 ± 0,12	03,59 ± 0,08	03,33 ± 0,08*	01,90 ± 0,14**
Peso individual médio das placentas (g)	00,47 ± 0,01	000,42 ± 0,02	00,45 ± 0,01	00,46 ± 0,02	00,46 ± 0,01	00,35 ± 0,03*

* Significativamente diferente dos outros grupos ($p < 0,05$)

** Significativamente diferente dos outros grupos ($p < 0,05$)

Os salicilatos ultrapassam com facilidade a membrana sinciciocapilar, conforme demonstrado tanto pelo uso da aspirina ^{14}C quanto por sua avaliação tecidual no concepto^{14,24}.

Wolf et al.²⁸ avaliaram que o nível de AAS no plasma fetal é aproximadamente um terço do nível encontrado no plasma materno e que o nível do seu principal metabólito, ainda mais potente, o ácido salicílico, corresponde a 80 - 90% do nível materno. Tal fato poderia justificar a toxicidade da droga no feto, pela rápida desesterificação hepática transformando o AAS em ácido salicílico. De Sweit e Fryers⁸ referiram ainda que 50% do AAS se transforma em ácido salicílico a cada 20 minutos no organismo materno, aumentando, como consequência, o teor no plasma fetal.

Deve ser mencionado que o rato é um animal muito tolerante ao AAS, uma vez que a DL 50 é de 1,75 g/kg de peso⁵. Morikawa et al.¹⁷, por sua vez, referem que a dose mínima que atua no rato como antiagregante plaquetária é de 10 mg/kg em machos e de 20 mg/kg em fêmeas. Neste experimento, a droga foi administrada do 5º ao 20º dia de prenhez, período que engloba as fases de embriogênese e desenvolvimento do concepto.

No que se refere à administração de 1 e 10 mg de AAS/kg de peso corporal por dia não foram observados efeitos adversos sobre a prenhez da rata, consideradas as variáveis ganho de pesos materno, do concepto, da placenta, assim como, taxa de vitalidade das crias. No entanto, com as doses de 100 e de 400 mg/kg obtivemos número menor de fetos associado a baixo peso, quando comparados aos demais grupos estudados (Tabela 1). Assim, em nosso estudo foi considerada baixa a dose diária 1 mg/kg, dose moderada 10 mg/kg e doses

elevadas a partir de 100 mg/kg.

Collins e Turner⁶ referiram que os recém-nascidos de mulheres que ingeriram salicilatos durante a gravidez apresentaram aumento significativo das taxas de natimortos e de mortalidade perinatal. O efeito de doses elevadas de salicilatos é amplamente discutido na literatura; em humanos, pode ocorrer toxicidade com ingestão que varia desde 500 até 2000 mg/kg de AAS¹¹. Deve ser mencionado que esses dados apoiam os nossos achados no que diz respeito ao número e peso dos fetos, quando utilizamos as altas doses do AAS, lembrando ainda que, em ratas, no caso de óbito intra-uterino, pode haver reabsorção total dos conceptos em qualquer período da gravidez.

Na literatura consultada, não encontramos trabalhos experimentais mostrando qualquer tipo de ação tóxica do AAS na placenta. Pelo contrário, é interessante relatar que Wallenburg e Rotmans²⁷, administrando baixas doses de AAS em humanos, preveniram a insuficiência útero-placentária idiopática. Quanto ao peso individual médio das placentas, obtivemos queda estatisticamente significativa somente entre os animais do grupo que recebeu 400 mg/kg; esse achado, ao que parece, deve estar associado ao grau de toxicidade do fármaco.

Quando se trata, porém, de ácido acetilsalicílico é impositivo considerar o papel das prostaglandinas, compostos derivados do ácido araquidônico metabolizado no fígado pelas enzimas ciclooxigenases (COX). As prostaglandinas PGD_2 e PGI_2 são sintetizadas respectivamente com maior intensidade no endotélio vascular e mastócitos da decídua materna, membranas fetais e cordão umbilical²⁶, e são responsáveis pela vasodilatação,

relaxamento do útero e inibição da agregação plaquetária.

As ciclooxigenases, por sua vez, existem sob duas isoformas: ciclooxigenase 1 (COX₁) enzima presente na grande maioria das células, está envolvida na homeostase normal, regulando as respostas circulantes principalmente dos glicolíticos, glucagon, adrenalina e vasopressina, promovendo a elevação da glicemia¹⁰; ciclooxigenase 2 (COX₂) estimulada pelas células dos processos inflamatórios raramente é encontrada em processos fisiológicos¹¹.

O AAS em doses altas assim chamadas, antiinflamatórias, inibe por sua vez, de forma irreversível, a COX₁, por acetilação da serina em posição 530¹⁶, o que implica na liberação de substrato, via lipoxigenase, que atua sobre plaquetas, músculos lisos e células endoteliais, alterando a homeostase¹³; além disso, pode haver também efeito vasoconstritor secundário, por inibição da conversão do ácido 12-L-hidroperoxi 5, 8, 10, 14 eicosatetróico (12-HPETE) para ácido 12-L-hidroxi 5, 8, 10, 14 eicosatetróico (12-HETE), conforme Seigel et al.²³. Além disso, o AAS atua sobre os processos de fosforilação oxidativa aumentando o consumo de O₂, como também interfere no equilíbrio ácido-básico e de eletrólitos¹⁹.

Finalizando, queremos dizer que, esta sucessão de fatos adversos por nós encontrada no binômio materno-fetal como a diminuição tanto dos pesos das ratas quanto dos baixos pesos das crias e das placentas, como também, da redução do número de crias vivas, podem ser creditados aos distúrbios do mecanismo homeostático por ingestão de altas doses de AAS durante toda a prenhez.

SUMMARY

The purpose of the present study was to evaluate the effects of acetylsalicylic acid (ASA) on the pregnancy of female albino rats. We used 60 pregnant female rats which were divided into six groups of ten each. All the animals received daily by gavage, from the 5th (day zero) until the 20th day of pregnancy, 1 ml of the following: Group I - only distilled water (control); Group II - 0.2% aqueous solution of carboxymethylcellulose (vehicle); Groups III, IV, V and VI - 1, 10, 100 and 400 mg/kg body weight respectively, of ASA diluted in 0.2% carboxymethylcellulose solution. The animals were weighed on days 0, 7, 14 and 20 of pregnancy. Our results showed that the animals treated with 100 mg of ASA presented a reduction in the number of live newborns. The animals treated with 400 mg/kg/day presented not only a reduction in the number of live newborns but also decrease in maternal, newborn and placental weight.

KEY WORDS: Acetylsalicylic acid. Placenta. Analgesic. Drugs in pregnancy.

Referências

1. Baba T, Nagahama M, Akiyama N, Miki T. Experimental production of malformations due to acetyl salicylate and phenyl salicylate in rats. **Osaka City Med J** 1966; **12:23-9**.
2. Bleyer WA, Breckenridge RT. Studies on the detection of adverse drug reactions in the newborn. II. The effects of prenatal aspirin on newborn hemostasis. **JAMA** 1970; **213:2049-53**.
3. Brown RA, West GB. Effect of acetylsalicylic acid on foetal rats. **J Pharmacol** 1964; **16:563-5**.
4. Cekanova E, Larsson KS, Morck E, Aberg G. Interactions between salicylic acid and pyridyl-3-methanol: antiinflammatory and teratogenic effects. **Acta Pharmacol Toxicol** 1974; **35:107-18**.
5. Circurel L, Schmid B. In vitro teratogenicity of acetylsalicylic acid on rat embryos: studies with various culture conditions. **Methods Find Exp Clin Pharmacol** 1986; **8:227-32**.
6. Collins E, Turner G. Maternal effects of regular salicylate ingestion in pregnancy. **Lancet** 1975; **2:335-7**.
7. Corby DG. Aspirin in pregnancy: maternal and fetal effects. **Pediatrics** 1978; **62:930-7**.
8. De Swiet M, Fryers G. Review: The use of aspirin in pregnancy. **J Obstet Gynecol** 1990; **10:457-82**.
9. Ericksson M. Salicylate-induced foetal damage late in pregnancy. An experimental study in mice. **Acta Paediat Scand** 1971 Suppl; **211:8-24**.
10. Gomez-Foix AM, Rodriguez-Gil JE, Guinovart JJ, Bosch F. Prostaglandins E2 and F2 alpha affect glycogen synthase and phosphorylase in isolated hepatocytes. **Biochem J** 1989; **261:93-7**.
11. Goodman LS, Gilman A. The pharmacological basis of therapeutics. 9nd ed. New York: Mc Graw-Hill; 1996. p. 601-30.
12. Harrison K, Thomas I, Smith I. Analgesic use during pregnancy. **Med J Aust** 1978; **2:161**.
13. Klein KL, Clark KE, Scott Jr WJ. Prostaglandin synthesis in rat embryo tissue: the effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs in vivo and ex vivo. **Prostaglandins** 1984; **27:659-72**.
14. Koshakjy RP, Schulert AR. Biochemical mechanisms of salicylate teratology in the rat. **Biochem Pharmacol** 1973; **22:407-16**.
15. Kullander S, Kallen B. A prospective study of drugs and pregnancy. 4. Miscellaneous drugs. **Acta Obstet Gynecol Scand** 1976; **55:287-95**.
16. Meade EA, Smith WL, De Witt DL. Differential inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase) isoenzymes by aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. **J Biol Chem** 1993; **268:6610-4**.

17. Morikawa M, Kojima T, Inoue M, Tsuboi M. Comparison of the inhibitory effects of aspirin and triclopidine on platelet aggregation and Ca²⁺ mobilization in rat platelets. **Res Commun Chem Pathol Pharmacol** 1986; 54:275-8.
18. Palmisano PA, Cassady G. Salicylate exposure in the perinate. **JAMA** 1969; 209:556-8.
19. Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Pharmacology. 3rd ed. Edinburgh: Churchill-Livingstone; 1995. p. 253-4.
20. Rumack CM, Guggenheim MA, Rumack BH, Peterson RG, Johnson ML, Braithwaite WR. Neonatal intracranial hemorrhage and maternal use of aspirin. **Obstet Gynecol** 1981; 58:52S-6S.
21. Schaller JG. Chronic salicylate administration in juvenile rheumatoid arthritis: aspirin hepatitis and its clinical significance. **Pediatrics** 1978; 62:916-25.
22. Sibai BM. An aspirin a day to prevent prematurity. **Clin Perinatol** 1992; 19:305-17.
23. Siegel MI, Mc Connell RT, Porter NA, Cuatrecasas P. Arachidonate metabolism via lipoxygenase and 12 L-hydroperoxy-5,8,10,14-icosatetraenoic acid peroxidase sensitive to anti-inflammatory drugs. **Proc Natl Acad Sci USA** 1980; 77:308-12.
24. Tagashira E, Nakao K, Urano T, Ishikawa S, Hiramori T, Yanaura S. Correlation of teratogenicity of aspirin to the stage-specific distribution of salicylic acid in rats. **Jpn J Pharmacol** 1981; 31:563-71.
25. Takacs E, Warkany J. Experimental production of congenital malformations in rats by salicylate poisoning. **Teratology** 1968; 1:109-18.
26. Vane J, Botting R. Inflammation and the mechanism of action of anti-inflammatory drugs. **FASEB J** 1987; 1:89-96.
27. Wallenburg HC, Rotmans N. Prevention of recurrent idiopathic fetal growth retardation by low-dose aspirin and dipyridamole. **Am J Obstet Gynecol** 1987; 157:1230-5.
28. Wolf F, Berg R, Putter J. Pharmacokinetics studies on the placental transfer of acetylsalicylic acid intravenously administered in the prepartal period. **Arch Gynecol** 1977; 224:195-6.
29. Woodbury DW. Analgésicos, antipiréticos, agentes antiinflamatórios e inibidores da síntese do ácido úrico. In: Goodman LS, Gilman A. As bases da farmacologia terapêutica. 4th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1973. p. 308.