VERBENIA NUNES COSTA

Detecção da disfunção cardíaca fetal pelo
BNP no sangue de cordão umbilical no
nascimento e sua relação com a
hemodinâmica fetal na insuficiência
placentária

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Obstetrícia e Ginecologia
Orientadora: Prof^a. Dra. Roseli Mieko.
Yamamoto. Nomura

São Paulo
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Costa, Verbenia Nunes

Detecção da disfunção cardíaca fetal pelo BNP no sangue de cordão umbilical no nascimento e sua relação com a hemodinâmica fetal na insuficiência placentária / Verbenia Nunes Costa. -- São Paulo, 2013.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Obstetrícia e Ginecologia.

Orientadora: Roseli Mieko Yamamoto Nomura.

Descritores: 1.Insuficiência placentária 2.Ultrassonografia Doppler 3.Peptídeo natriurético encefálico 4.Miocárdio 5.Cordão umbilical 6.Hipóxia fetal 7.Ducto venoso 8.BNP

USP/FM/DBD-088/13

Dedicatória

A todas as pacientes com gestações complicadas por insuficiência placentária. Obrigada pela oportunidade deste estudo e de outros que certamente virão. Palavras aqui não seriam suficientes para descrever a angústia, a dúvida e a tristeza que muitas experimentam. Que o sorriso daquelas que venceram esta etapa continue sendo o nosso incentivo para prosseguir.

Agradecimentos

A Deus, pela vida, sempre.

Aos meus pais e irmãos pelo apoio incondicional.

Ao Professor Marcelo Zugaib, por fazer da Clínica Obstétrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, um centro de excelência no ensino da Obstetrícia no Brasil. E por todas as oportunidades que tive nesta instituição.

A minha orientadora Professora Roseli Mieko Yamamoto Nomura, pelo exemplo de determinação e persistência. Pela paciência e carinho nos momentos mais difíceis desta caminhada. Meu sincero agradecimento.

As alunas da pós-graduação Marisa Takano e Renata Saffioti e as médicas assistentes Mariane Maeda e Juliana Niigaki pelo trabalho conjunto. A participação de todas foi essencial para a execução deste trabalho.

Aos Professores Dr. Jorge Rezende Filho, Dra Rossana Pulcineli Vieira Francisco e ao Dr. Seizo Miyadahira por todas as considerações e sugestões feitas durante a qualificação.

A professora Dra Maria Aparecida Basile, da disciplina Metodologia de Ensino I e do Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE) por seu cuidado e dedicação à arte de ensinar.

A secretária Gladis dos Santos, do Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por toda ajuda com o material utilizado com os alunos durante o estágio do PAE. Ao Pós-graduando Dr. Roberto Márcio Oliveira pelo apoio durante o PAE.

A secretária da Pós-Graduação da Clínica Obstétrica Adriana Regina Festa por sua atenção e carinho.

A todos os funcionários da Clínica Obstétrica, ambulatório, enfermaria, biblioteca e setor de informática por toda a colaboração durante todos esses anos.

A todos os assistentes da Clínica Obstétrica por todos os ensinamentos e oportunidades, durante meus estágios e cursos de pós-graduação

As minhas queridas amigas, Claudia Oliveira, Danyella Melo, Luciana Carla Longo e Pereira e Tatiana Bernath Liao por me suportarem nos momentos turbulentos, por seus conselhos pessoais e profissionais, e principalmente pela amizade.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:
Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).
Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação.
Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese
Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza
Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e
Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index
Medicus*.

Sumário

Lista de abreviaturas

Resumo

Summary

1 Introdução.....	01
2 Objetivos.....	09
3 Revisão da Literatura.....	11
3.1 Hemodinâmica fetal na restrição de crescimento fetal.....	12
3.2 Peptídeo natriurético cardíaco tipo B (BNP).....	14
3.3 BNP na circulação fetal.....	20
4 Métodos.....	29
4.1 Casuística.....	30
4.2 Coleta de dados.....	31
4.3 Avaliação da circulação fetal pela dopplervelocimetria.....	32
4.4 Coleta de sangue de cordão umbilical.....	35
4.5 Dados do parto e do recém-nascido.....	37
4.6 Variáveis analisadas.....	38
4.7 Análise estatística.....	39
4.8 Caracterização da população.....	40
5 Resultados.....	41
5.1 Cardiotocografia e perfil biofísico fetal.....	42
5.2 Dopplervelocimetria da circulação fetal.....	43
5.3 Correlação entre BNP no nascimento e dopplervelocimetria.....	44
5.4 Correlação entre BNP no nascimento e dados do parto.....	46
5.5 Regressão múltipla.....	47
5.6 Gráficos de regressão.....	48
6 Discussão.....	50
7 Conclusões.....	59
8 Anexos.....	61
9 Referências.....	65

Lista de abreviaturas

ACM: artéria cerebral média

AU: artéria umbilical (s)

bpm: batimentos por minuto

CAPPesq: Comissão de Análise de Projeto de Pesquisa

DP: desvio padrão

DV: ducto venoso

DR: diástole reversa nas artérias umbilicais

DZ: diástole zero nas artérias umbilicais

et al.: e outros

HCFMUSP: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

IC: intervalo de confiança

IG: idade(s) gestacional(is)

ILA: índice de líquido amniótico

IP: índice de pulsatilidade

IPV: índice de pulsatilidade para veias

PBF: perfil biofísico fetal

RCF: restrição do crescimento fetal

RCP: relação cerebroplacentária

rho: coeficiente de Spearman

RN: recém-nascido(s)

Lista de tabelas

Tabela 1	Características maternas, neonatais e parâmetros de dopplervelocimetria antenatal em gestações com insuficiência placentária (N = 32) - HCFMUSP - 2010 a 2012	40
Tabela 2	Distribuição de acordo com os resultados da cardiotocografia, perfil biofísico fetal e índice de líquido amniótico em gestações com insuficiência placentária (N=32) - HCFMUSP - 2010 a 2012	42
Tabela 3	Médias, desvios-padrão, medianas, mínimos e máximos dos índices dopplervelocimétricos em gestações com insuficiência placentária (N=32) - HCFMUSP - 2010 a 2012	43
Tabela 4	Correlações entre o BNP no nascimento e os parâmetros de dopplervelocimetria em gestações com insuficiência placentária (N=32) - HCFMUSP - 2010 a 2012	45
Tabela 5	Correlações entre o BNP no nascimento e os parâmetros do nascimento em gestações com insuficiência placentária (N=32) - HCFMUSP - 2010 a 2012	46
Tabela 6	Análise de regressão múltipla com coeficientes de regressão e de correlação das variáveis analisadas com a variável dependente (BNP no nascimento) em gestações com insuficiência placentária (N=32) - HCFMUSP - 2010 a 2012	47

Lista de figuras e gráficos

Figura 1	Estrutura do peptídeo natriurético humano do tipo ANP, BNP e CNP. Fonte: Mungala et al. ⁵⁹ Curr Prob Cardiol. 2004;29(12):707-69	16
Figura 2	Modelo esquemático dos diferentes tipos de receptores de peptídeos natriuréticos. ANP= peptídeo natriurético atrial; BNP= peptídeo natriurético tipo B; CNP= peptídeo natriurético tipo C; cGMP= guanosina monofosfato cíclico; GTP=guaninatrifosfato; NPR-A= receptor ANP; NPR-B= receptor BNP; NPR-C= receptor CNP. Fonte: Abassi et al. ⁶⁹ Pharmacol Ther. 2004;102(3):223-41	19
Figura 3	Dopplervelocimetria da artéria umbilical do cordão próximo à inserção placentária	33
Figura 4	Dopplervelocimetria da artéria cerebral média em sua porção inicial com ângulo de insonação inferior a 20 graus	34
Figura 5	Dopplervelocimetria do ducto venoso, em corte transversal do abdome fetal	35
Figura 6	Analizador de sangue portátil i-STAT (A) e cartucho i-STAT BNP (B)	36
Figura 7	Distribuição dos casos de acordo com o fluxo diastólico final na dopplervelocimetria da artéria umbilical em gestações com insuficiência placentária (N=32) - HCFMUSP - 2010 a 2012	44
Gráfico 1	Gráfico de correlação entre o valor do BNP no nascimento e o escore zeta do IPV do ducto venoso em gestações com insuficiência placentária. (F=18,8; P<0,001; equação de regressão Log[BNP] = 2,34 + 0,13*DV). HCFMUSP - 2010 a 2012	48
Gráfico 2	Gráfico de correlação entre o valor do BNP no nascimento e o pH de artéria umbilical no nascimento em gestações com insuficiência placentária (F=7,69; P=0,01; equação de regressão Log[BNP]=21,36-2,62*pH). HCFMUSP - 2010 a 2012	49

Resumo

COSTA, VN. *Deteção da disfunção cardíaca fetal pelo BNP no sangue de cordão umbilical no nascimento e sua relação com a hemodinâmica fetal na insuficiência placentária* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

O presente estudo analisou a hipótese de que as alterações hemodinâmicas fetais estão associadas à disfunção miocárdica fetal em gestações complicadas pela insuficiência placentária. Os objetivos do estudo foram correlacionar os valores do peptídeo natriurético cardíaco do tipo B (BNP) em sangue de cordão umbilical no nascimento com os parâmetros da dopplervelocimetria fetal, bem como com o pH no nascimento. Métodos: estudo prospectivo e transversal, com os seguintes critérios de inclusão: mulheres com gestação com feto único e vivo, insuficiência placentária caracterizada pelo aumento do índice de pulsatilidade (IP) da artéria umbilical (AU), membranas íntegras e ausência de anomalias fetais. Foram excluídos da pesquisa os casos com diagnóstico pós-natal de anomalia do recém-nascido e aqueles nos quais não foi realizada a análise do sangue no nascimento. Os seguintes parâmetros da dopplervelocimetria foram analisados: índice de pulsatilidade (IP) da artéria umbilical (AU) e da artéria cerebral média (ACM), relação cerebroplacentária (RCP) e IP para veias (IPV) do ducto venoso (DV). Os parâmetros de Doppler foram transformados em escore zeta. Amostras de sangue do cordão umbilical foram obtidas imediatamente após o parto para a mensuração do pH de artéria umbilical e do BNP. Resultados: Foram incluídas 32 gestações com diagnóstico de insuficiência placentária 21 (65%) com fluxo diastólico positivo e 11 (35%) com diástole zero ou reversa nas AU. A concentração do BNP apresentou correlação significativa com: escore zeta do IP da AU ($\rho=0,43$; $P=0,016$); escore zeta da RCP ($\rho=-0,35$; $P=0,048$); escore zeta do IPV do DV ($\rho=0,61$; $P<0,001$), pH no nascimento ($\rho=-0,39$; $P=0,031$) e idade gestacional ($\rho=-0,51$; $P=0,003$). Na regressão múltipla foram incluídos os parâmetros antenatais e o escore zeta do IPV do DV ($P=0,008$) demonstrou ser o único fator independente correlacionado com o BNP no nascimento. A correlação entre o BNP e o escore zeta do IPV do DV é representado pela equação de regressão $\text{Log}[\text{BNP}]=2,34+0,13*\text{DV}$ ($F=18,8$, $P<0,001$). A correlação entre o BNP e o pH no nascimento é representado pela equação de regressão $\text{Log}[\text{BNP}]=21,36-2,62*\text{pH}$ ($F=7,69$, $P=0,01$). Conclusão: os resultados sugerem que a disfunção cardíaca fetal identificada pelas concentrações de BNP no nascimento correlaciona-se de forma independente com as alterações no IPV do DV, além de correlacionarem-se negativamente com os valores do pH no nascimento.

Descritores: Insuficiência placentária; Peptídeo natriurético encefálico; Miocárdio; Hipóxia fetal; Ultrassonografia Doppler, cordão umbilical.

Summary

COSTA, VN. *Detection of fetal cardiac dysfunction by BNP in umbilical cord blood at birth and the relation to fetal hemodynamic in placental insufficiency* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2013.

This study examined the hypothesis that fetal hemodynamic changes are associated with fetal myocardial dysfunction in pregnancies complicated by placental insufficiency. The objective was to study the correlation between the concentrations of cardiac natriuretic peptide type B (BNP) in umbilical cord blood at birth and fetal Doppler parameters, as well as the pH at birth. Methods: A prospective cross-sectional study with the following inclusion criteria: pregnant women with a single fetus, placental insufficiency characterized by increased pulsatility index (PI) of the umbilical artery (UA), intact membranes and absence of fetal abnormalities. There were excluded from the study cases with postnatal diagnosis of abnormality of the newborn and those in which the blood analysis was not performed. The following Doppler parameters were analyzed: UA PI, middle cerebral artery (MCA) PI, cerebroplacental ratio (CPR) and ductus venosus (DV) PI for veins (PIV). The Doppler parameters were converted into zeta score. Blood samples were obtained from the umbilical cord immediately after delivery to measure the pH of the umbilical artery and the BNP. Results: Thirty two pregnancies with placental insufficiency were included, 21 (65%) with positive diastolic flow and 11 (35%) with absent or reversed end diastolic flow in the UA. The concentration of BNP correlated significantly with: UA-PI z-score ($\rho = 0.43$, $P = 0.016$); CPR z-score ($\rho = -0.35$, $P = 0.048$); DV-PIV z-score ($\rho = 0.61$, $P < 0.001$), pH at birth ($\rho = -0.39$, $P = 0.031$) and gestational age ($\rho = -0.51$, $P = 0.003$). In the multiple regression analysis, antenatal parameters were included and DV-PIV z-score ($P = 0.008$) was found to be independent parameter correlated with BNP at birth. The correlation between BNP and DV-PIV z-score is represented by the regression equation $\text{Log [BNP]} = 2.34 + 0.13 \cdot \text{DV}$ ($F=18.8$, $P < 0.001$). The correlation between BNP and pH at birth is represented by the regression equation $\text{Log [BNP]} = 21.36 - 2.62 \cdot \text{pH}$ ($F=7.69$, $P = 0.01$). Conclusion: The results suggest that fetal cardiac dysfunction identified by BNP concentrations at birth correlated independently with changes in the DV PIV, and correlated negatively with pH values at birth.

Descriptors: Placental insufficiency; Natriuretic Peptide, Brain; Myocardium; Fetal hypoxia; Ultrasonography, Doppler, umbilical cord.

1 Introdução

A insuficiência placentária constitui complicação que pode ocorrer durante a gestação, como consequência de predisposição materna genética ou de causas adquiridas. Geralmente está associada a doenças maternas (hipertensão essencial, diabetes mellitus, entre outras) ou intercorrências gravídicas como a doença hipertensiva específica da gravidez. Encontra-se também associada à gestação múltipla, primiparidade, fatores ambientais e fatores nutricionais¹.

As complicações decorrentes das gestações com insuficiência placentária relacionam-se com a prematuridade e, conseqüentemente, apresentam maiores taxas de admissão em unidade de terapia intensiva e maior morbidade e mortalidade perinatais.

A ocorrência da disfunção placentária aumenta os riscos das complicações fetais, destacando-se a restrição de crescimento fetal (RCF) e até a ocorrência óbito fetal nos casos de maior gravidade^{2,3}. A RCF é classicamente caracterizada pela ultrassonografia quando o peso fetal encontra-se abaixo do décimo percentil para a idade gestacional⁴, entretanto outros parâmetros fetais também podem ser utilizados na sua caracterização, tal como a circunferência

abdominal, ou diferentes pontos de corte como o percentil 3 ou 5 para o peso fetal⁵.

Os casos de maior gravidade de insuficiência placentária relacionam-se com alterações progressivas da circulação placentária e fetal e estão amplamente descritas na literatura^{2,3,5}. A dopplervelocimetria das artérias uterinas, umbilicais, cerebral média e do ducto venoso representam os vasos mais comumente estudados. As anormalidades nos índices e nas velocidades de fluxo apresentam correlação com as condições de nascimento do recém-nascido.

As alterações dopplervelocimétricas precocemente observadas são verificadas no compartimento arterial. Os primeiros sinais de disfunção placentária observados são a elevação da resistência do fluxo sanguíneo na artéria umbilical e diminuição da resistência na artéria cerebral média, com consequente redução da relação cerebroplacentária (RCP)⁶. Essas alterações correspondem às adaptações hemodinâmicas decorrentes da insuficiência placentária com redistribuição de fluxo sanguíneo preferencialmente para o cérebro. Este fenômeno é conhecido como *brain sparing effect*, ou, no nosso meio, centralização da circulação fetal. Nos estágios iniciais verifica-se redução da RCP. Com a progressão da insuficiência e da hipoxia há diminuição progressiva da resistência do fluxo sanguíneo na artéria cerebral média. Mari et al.⁷ estudam o pico de velocidade sistólica da artéria cerebral média e observam que a elevação da velocidade máxima pode predizer a mortalidade perinatal em fetos com RCP, quando comparado com a redução do índice de pulsatilidade da artéria cerebral média. As alterações progressivas que

ocorrem na artéria umbilical são a ausência de fluxo diastólico final (diástole zero – DZ) e presença de fluxo reverso (diástole reversa – DR) no final da diástole⁶.

As anormalidades no Doppler venoso são caracterizadas pelo aumento do índice de pulsatilidade para veias do ducto venoso com progressão para fluxo ausente ou reverso durante a sístole atrial e a presença de pulsação na veia umbilical. A onda característica da velocidade de fluxo no ducto venoso tem padrão característico trifásico que reflete as alterações de pressão no átrio direito, durante o ciclo cardíaco⁸.

As alterações que ocorrem no Doppler venoso de fetos em gestações complicadas pela insuficiência placentária estão associadas à progressão da deterioração circulatória fetal. Durante muitos anos a avaliação das alterações observadas na insuficiência placentária pelo Doppler ficou restrita à análise das circulações materna e fetal. Com o aparecimento de aparelhos ultrassonográficos, com maior definição de imagem, e acessibilidade a novas técnicas a avaliação fetal tornou-se cada vez mais pormenorizada, permitindo ao obstetra ter maiores informações sobre a repercussão da hipoxemia progressiva em diferentes órgãos fetais.

A avaliação do coração pela ecocardiografia trouxe importantes informações sobre a participação deste órgão vital nos processos de adaptação fetal nas situações onde ocorre alteração da sua homeostase circulatória. As alterações placentárias afetam principalmente a circulação periférica; todavia a função cardíaca fetal também parece ser afetada por essas alterações. As repercussões da

hipoxia fetal crônica na função cardíaca fetal tem sido avaliada em gestações de alto risco⁹.

O coração fetal é órgão central nos mecanismos de adaptação à insuficiência placentária, e a disfunção cardíaca é reconhecida como uma das principais alterações fisiopatológicas da RCF, precoce ou tardia. A disfunção cardíaca é, muitas vezes, subclínica¹⁰; e requer métodos sensíveis para a sua detecção. Estudos demonstram que a disfunção sistólica surge apenas em casos de maior gravidade, pois a fração de ejeção somente se deteriora em estágios tardios¹¹; e o débito cardíaco ajustado para o peso fetal permanece normal, apesar da progressão da doença¹². A disfunção diastólica é observada em fetos com restrição de crescimento a partir de estágio precoce de deterioração, mensurada pelo aumento da pulsatilidade nas veias precordiais, particularmente no ducto venoso, com aumento dos níveis de peptídeos natriuréticos no sangue de cordão umbilical^{10,13,14}, o que representa o fenômeno adaptativo à hipoxia crônica.

A investigação sobre o coração fetal com a utilização de marcadores bioquímicos da disfunção cardíaca surge como meio para a melhor compreensão dos mecanismos compensatórios que o organismo fetal emprega na tentativa de manter a estabilidade entre a oferta e a demanda de oxigênio naquelas gestações complicadas pela insuficiência placentária.

Os peptídeos natriuréticos dosados no sangue de cordão umbilical e sua correção com parâmetros do Doppler têm contribuído para o maior conhecimento sobre o comprometimento cardíaco e corrobora a hipótese da

existência de disfunção miocárdica em gestações complicadas com alterações de fluxo sanguíneo fetoplacentário^{10,13,-16}. Os peptídeos natriuréticos são liberados na circulação em decorrência do aumento de pressão nas câmaras cardíacas. A distensão das fibras miocárdicas parece ser o mecanismo determinante. Atuam pela ligação com receptores em órgãos-alvo, produzindo efeitos específicos que tentam atuar na regulação da circulação. São hoje considerados os responsáveis pela função endócrina do coração¹⁷.

Devido sua importância fisiopatológica, os peptídeos natriuréticos têm sido utilizados para o diagnóstico e prognóstico na insuficiência cardíaca e no infarto do miocárdio em adultos¹⁸⁻²³. Progressivamente o seu uso e aplicabilidade foram incorporados ao acompanhamento de crianças, e, mais recentemente, em estudos fetais.

O nível de peptídeo natriurético do tipo B (BNP) no sangue de cordão umbilical pode variar de acordo com a idade gestacional²⁴ e estudos realizados apresentam curvas de normalidade para gestações consideradas normais^{25,26}.

É crescente o interesse nos mecanismos fisiopatológicos das gestações com insuficiência placentária e da indubitável participação do coração como órgão vital nos processos circulatórios. O miocárdio sofre influências diversas como o favorecimento inicial, com maior suprimento de oxigênio, mas alterações ocorrem em decorrência das variações de pressão e de volume dentro dos átrios e ventrículos; devido à maior resistência encontrada à propulsão do sangue com o aumento da pós-carga na insuficiência placentária.

O advento do conhecimento da família dos peptídeos natriuréticos surge como mais um elemento na compreensão dos mecanismos envolvidos nas situações clínicas que cursam com progressiva deterioração circulatória, e subsequente comprometimento do músculo cardíaco.

Existem diferenças entre os estudos realizados com o BNP em consequência aos diferentes métodos utilizados para a dosagem deste peptídeo. Entretanto, os métodos validados e os níveis encontrados de acordo com cada fabricante guardam confiabilidade na sua correlação com a existência de disfunção miocárdica, o que pode ser verificado pela ampla aplicabilidade da mensuração do peptídeo natriurético no diagnóstico e tratamento das doenças cardiovasculares.

Barra²⁷ avalia as alterações dos níveis de peptídeos natriuréticos dos tipos A e B (ANP e BNP, respectivamente) e da síntese de óxido nítrico em fetos com o diagnóstico de restrição de crescimento e conclui que, quando há a centralização do fluxo sanguíneo, esses fetos apresentam elevação das concentrações plasmáticas dos níveis de peptídeos natriuréticos.

Com as informações disponíveis na literatura, torna-se evidente a importância da avaliação integrada do Doppler com os marcadores de disfunção do miocárdio, como meio de fornecer novos dados sobre a compreensão do comprometimento e deterioração do coração de fetos restritos. Além disso, o grau e a duração da disfunção cardíaca podem estar associados a efeitos adversos na programação fetal da função cardiovascular e no aparecimento de doenças na vida adulta²⁸.

Diante da associação entre os marcadores bioquímicos de disfunção cardíaca e as alterações verificadas no compartimento circulatório fetal, o presente estudo procura estabelecer, nas gestações complicadas pela insuficiência placentária, a relação entre as alterações dopplervelocimétricas verificadas na circulação fetal e fetoplacentária com os níveis do BNP no sangue do cordão umbilical no nascimento.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral:

O presente estudo realizado em gestações com insuficiência placentária tem como objetivo estudar os parâmetros dopplervelocimétricos da hemodinâmica fetal e sua associação com a disfunção miocárdica fetal.

2.2 Objetivos específicos:

Tem como objetivo específico correlacionar os valores do BNP no nascimento com os seguintes parâmetros:

- Índice de pulsatilidade da artéria umbilical;
- Índice de pulsatilidade da artéria cerebral média;
- Relação cerebroplacentária;
- Índice de pulsatilidade para veias do ducto venoso;
- pH de artéria umbilical no nascimento.

3 Revisão da Literatura

3.1 Hemodinâmica fetal na restrição de crescimento fetal

Muitas condições maternas, incluindo as doenças sistêmicas, podem associar-se a restrição de crescimento fetal. Uma das causas mais comuns é a hipertensão materna, que pode ser essencial ou associada à gestação, e que cursa com alterações placentárias, como a redução do tamanho placentário e achados histológicos que mostram maturidade acelerada das vilosidades coriônicas e infartos vilosos em vários graus²⁹. Entretanto, o mecanismo exato que faz com que as várias doenças modifiquem a função placentária ainda é desconhecido.

A definição mais comum de RCF refere-se ao peso fetal abaixo do décimo percentil para a idade gestacional⁴. Quando o feto é identificado com restrição de crescimento, o seguimento realizado por meio dos estudos ultrassonográficos com Doppler permite identificar a sequência temporal das adaptações fetais que ocorrem em resposta à progressiva insuficiência placentária⁶. As primeiras alterações ocorrem no território arterial, demonstradas pelo aumento no índice de pulsatilidade das artérias umbilicais e pela redução na artéria cerebral média fetal. Esta fase é conhecida como centralização da circulação, pois ocorre aumento do fluxo sanguíneo cerebral para proteção do órgão. Os achados subsequentes são representados pelas alterações no território venoso, com alterações no fluxo do ducto venoso, na pulsatilidade da veia umbilical e ausência

de velocidade diastólica final na artéria umbilical. Por fim, ocorre fluxo reverso na artéria umbilical, ducto venoso e istmo aórtico e aspecto de dupla pulsação da veia umbilical³⁰.

A gravidade e progressão da disfunção vascular placentária leva a alterações tanto no compartimento materno quanto no fetal. Os primeiros sinais de alteração na perfusão vilosa são observados ao estudo com o Doppler, demonstrando redução no volume de fluxo venoso umbilical e aumento da resistência do fluxo sanguíneo placentário. Quando cerca de 30% dos vasos vilosos encontram-se comprometidos, a velocidade diastólica final da artéria umbilical diminui e o índice de resistência torna-se elevado. A ausência e até mesmo a velocidade diastólica final reversa na artéria umbilical ocorre quando 60 a 70% da árvore vascular vilosa encontra-se afetada³¹⁻³³.

A utilização do estudo ultrassonográfico com análise do Doppler tem ajudado na análise das alterações cardiovasculares que ocorrem nos fetos com restritos³⁴⁻³⁸. Em condições normais, proporção considerável de sangue oxigenado retorna da placenta e, pela veia umbilical, é direcionado ao ducto venoso e para a veia cava inferior. Através do forame oval, atinge o átrio esquerdo e ventrículo esquerdo³⁹. Deste modo as circulações coronária e cerebral recebem sangue altamente oxigenado.

Nas gestações que cursam com insuficiência placentária, a hipoxemia e hipoxia fetal progressiva provocam alterações hemodinâmicas no feto, identificáveis pelos métodos propedêuticos tal como a dopplervelocimetria^{12,40}. Os

principais vasos da circulação fetal e a distribuição do fluxo fetal passam por adaptações desencadeadas pelos mecanismos compensatórios³⁵. Fetos que cursam com hipoxemia redistribuem a circulação aumentando o fluxo para órgãos vitais como: o cérebro, coração e glândulas adrenais^{41,42}. Ocorre também a hiperperfusão cerebral que é representada pela diminuição na resistência vascular na artéria cerebral média⁴³.

Na insuficiência placentária, o aumento da resistência no território da placenta, a vasoconstrição periférica e a redistribuição do sangue arterial promovem aumento da pós-carga, aumentando o volume residual e a pressão diastólica final ventricular, mesmo enquanto a contratilidade miocárdica é normal. Entretanto quando a contração atrial ocorre, existe aumento da pressão em câmaras direitas e pode surgir fluxo reverso para o sistema venoso⁴⁴. Alterações na função cardíaca sistólica e diastólica fetal, regurgitação tricúspide, hipertrofia miocárdica e cardiomegalia também foram observadas⁴⁵.

As adaptações do feto aos distúrbios de sua oxigenação, na insuficiência placentária, provocam alterações significativas na função cardíaca fetal, associando-se, inclusive, com a lesão miocárdica e alterações demonstráveis pela análise de marcadores bioquímicos no sangue de cordão umbilical nascimento⁴⁶⁻⁴⁹.

3.2 Peptídeo natriurético cardíaco tipo B (BNP)

O BNP é marcador bioquímico da função cardíaca⁵⁰. É sintetizado, armazenado e liberado pelo miocárdio ventricular, em resposta ao aumento do

volume e sobrecarga de pressão na câmara cardíaca⁵¹. Os cardiomiócitos ventriculares produzem proBNP, que é clivado no fragmento biologicamente ativo (fragmento N-terminal –NT-proBNP)⁵².

Mecanismos compensatórios da hemodinâmica fetal podem levar a alterações no miocárdio e deterioração da vitalidade fetal, e a produção desses peptídeos parece aumentar com a gravidade do comprometimento fetal. Em adultos, ambos o BNP como o NT-pro BNP são associados à maior morbidade e mortalidade cardiovascular^{53,54}. Em fetos com restrição de crescimento, alterações hemodinâmicas fetais, principalmente no território venoso, estão associadas ao aumento das concentrações sérica do NT-proBNP no sangue de cordão umbilical^{14,16}.

O peptídeo natriurético do tipo A - *atrial natriuretic peptide*- (ANP) e o peptídeo natriurético do tipo B – *brain natriuretic peptide* - (BNP) são os produtos mais importantes secretados pelo miocárdio endócrino do adulto. Atuam como peptídeos hormonais em órgãos específicos para produzir natriurese, diurese, vasodilatação e hipotensão⁵⁵.

A partir dos estudos de Bold et al.⁵⁶, demonstrando que extratos do tecido atrial injetados em ratos causam natriurese potente nos animais receptores, o coração também passa a ser conhecido como órgão endócrino¹⁷. Posteriormente, esse extrato atrial foi purificado, sequenciado e designado como α -human atrial natriuretic polypeptide (α -hANP)⁵⁷.

Após essa descoberta, outros estudos levam ao conhecimento e identificação da família de peptídeos similares em estrutura (Figura 1), mas geneticamente distintos dos hormônios cardíacos, que incluem o BNP e o peptídeo natriurético do tipo C (CNP). Mais recentemente, Schweitz et al.⁵⁸ relatam o isolamento do peptídeo 38-aminoácido do veneno da cobra verde Mamba, que denominam como *dendroaspsis natriuretic peptide* (DNP), que surge como quarto membro do sistema de peptídeos natriuréticos. Esse sistema hormonal tem sido considerado como importante fator para a homeostase da pressão arterial. Evidências dão suporte para que seja considerado como sistema neuro-humoral compensatório, que em contraste com outros, tais como o sistema renina-angiotensina-aldosterona e o sistema nervoso simpático, funciona na tentativa de retardar a progressão da insuficiência cardíaca. Devido à participação desses peptídeos na fisiopatologia cardíaca, a relevância clínica dos mesmos é rapidamente reconhecida e utilizada no diagnóstico e acompanhamento terapêutico das doenças cardiovasculares⁵⁹.

Figura 2- Estrutura do peptídeo natriurético humano do tipo ANP, BNP e CNP. Fonte: Mungala et al.⁵⁹ Curr Prob Cardiol. 2004;29(12):707-69.

O ANP é um polipeptídeo 28-aminoácido produzido pelos cardiomiócitos atriais. É armazenado como 126-aminoácido pró-hormônio, o proANP1-126, é clivado pela protease serina colina em um fragmento N-terminal grande e biologicamente inativo N-ANP1-98, e em outro fragmento menor e biologicamente ativo, o 28-polipeptídeo aminoácido ANP99-126⁵⁵. Há também pequena produção pelos miócitos ventriculares. O ANP é liberado dos átrios e ventrículos, em resposta à distensão das fibras das paredes átrio-ventriculares.

O BNP é inicialmente isolado em 1988, a partir de extratos de cérebro de porcos⁶⁰, justificando assim a origem de sua denominação – *brain natriuretic peptide*. Subsequentemente, os miócitos atriais e ventriculares são identificados como os verdadeiros sítios primários de sua produção⁶¹. O BNP é sintetizado como pré-proBNP que é processado no meio intracelular para proBNP1-108, então clivado pela furina e secretado como fragmento N-terminal BNP1-76 (biologicamente inativo) e 32-aminoácido BNP77-108(fragmento biologicamente ativo)⁵⁵. Assim como com o ANP, o estímulo predominante para que ocorra a síntese e liberação do BNP nos átrios e ventrículos parece ser a distensão das paredes cardíacas^{61,62}. Por ser mais estável e ter meia-vida mais longa (22 minutos) que o ANP, o nível de BNP no plasma é maior, porém menor que o nível de N-BNP que tem meia-vida mais longa (aproximadamente 70 minutos)⁵⁵.

O terceiro membro da família dos peptídeos natriuréticos, o CNP, parece ser predominantemente derivado das células endoteliais⁶³. Também é

sintetizado como pré-hormônio e depois processado em estrutura 22-aminoácido biologicamente ativo, e em outra pró-forma, maior e inativa, a CNP-53. Acredita-se que possua função parácrina e de citocina na vasculatura^{64,65}.

O DNP possui o 8-aminoácido N-terminal e 17-aminoácido dissulfídico similar aos outros peptídeos natriuréticos e extensão 15-aminoácido C terminal⁶⁶.

O aumento da pressão ou volume nas câmaras cardíacas assim como a influência de fatores neuro-hormonais podem estimular a síntese e liberação dos peptídeos derivados do pro-ANP e pro-BNP. As concentrações séricas do ANP e NT-pro-ANP refletem primariamente o aumento da pré-carga cardíaca, enquanto que as concentrações de BNP e NT-pro-BNP estão associadas ao aumento da pós-carga^{67,68}. O ANP e o BNP têm ação biológica principalmente via ativação do receptor de peptídeo natriurético guanylyl ciclase subtipo A (GC-A) que causa o aumento da concentração intracelular de guanosina monofosfato-GMP cíclico (Figura 2)⁶⁷. Os receptores GC-A estão presentes nos vasos sanguíneos, coração e rins⁶⁸.

Figura 2 - Modelo esquemático dos diferentes tipos de receptores de peptídeos natriuréticos. ANP= peptídeo natriurético atrial; BNP= peptídeo natriurético tipo B; CNP= peptídeo natriurético tipo C; cGMP= guanosina monofosfato cíclico; GTP=guanintrifosfato; NPR-A= receptor ANP; NPR-B= receptor BNP; NPR-C= receptor CNP. Fonte: Abassi et al.⁶⁹ Pharmacol Ther. 2004;102(3):223-41

Em estudos comparativos o BNP e o seu fragmento N-terminal proBNP (NT-pro-BNP) foram considerados superiores ao ANP como marcadores no infarto do miocárdio e na insuficiência cardíaca crônica⁷⁰. Estudos clínicos e experimentais têm demonstrado que a isquemia miocárdica e a hipóxia aguda são eventos importantes na liberação do BNP⁷⁰⁻⁷¹.

Recentemente estudo realizado em pacientes com dor torácica aguda, o BNP apresentou maior acurácia na predição da mortalidade do que a troponina T cardíaca. Entretanto, não contribuiu para o diagnóstico precoce do infarto agudo do miocárdio⁷².

A liberação do ANP e do BNP está associada a mecanismos sinérgicos cardioprotetores em resposta a sobrecarga de pressão e volume nas câmaras cardíacas. As ações benéficas conhecidas do BNP incluem: melhora da insuficiência cardíaca primariamente por reduzir a pré-carga, facilitar a excreção de sal e água e inibir o sistema renina-angiotensina-aldosterona⁷³.

3.3 BNP na circulação fetal

A insuficiência placentária e, como consequência, a RCF constitui importante causa de mortalidade e morbidade perinatal. Estudos demonstram que a RCF está associada com a disfunção cardiovascular fetal, relatando alterações nos parâmetros ecocardiográficos, principalmente relacionados à função diastólica, e aumento dos níveis fetais de BNP^{10,14}. Além disso, estudos epidemiológicos e em modelos animais têm demonstrado que recém-nascidos de baixo peso têm maior risco de desenvolver doença cardiovascular na vida adulta, incluindo a hipertensão arterial e a doença coronariana. Portanto, o estudo da hemodinâmica pelos parâmetros da dopplervelocimetria fetal e a caracterização da disfunção cardíaca fetal na RCF pode auxiliar no manejo clínico e na compreensão da programação cardíaca fetal.

Em fetos, Walther et al.⁷⁴ observam que há alta concentração de peptídeos natriuréticos na circulação, como resposta à sobrecarga de volume, quando comparados com os adultos, indicando que o sistema de peptídeos é também muito importante no controle da pressão e do volume cardíaco no feto.

Mäkikallio et al.¹³ realizam avaliação ultrassonográfica e de marcadores bioquímicos de disfunção cardíaca fetal em 48 gestações com sinais de insuficiência placentária (peso fetal menor que o décimo percentil na curva de crescimento e/ou com velocidade de fluxo na artéria umbilical anormal). Com estudo de Doppler avaliam o índice de pulsatilidade das artérias umbilical e cerebral média, do ducto venoso, da veia hepática esquerda, veia cava inferior e veia umbilical. Analisam a função sistólica e diastólica cardíaca, válvulas mitral e tricúspide e fluxo volumétrico sanguíneo. Os marcadores dosados são NT-proANP e a troponina T cardíaca. Observam que ocorre aumento do tamanho cardíaco quanto maior a gravidade da insuficiência placentária, sugerindo que quanto maior a pós-carga, maior será o volume cardíaco relativo. Concluem também que a pulsatilidade observada no sistema venoso está correlacionada de modo significativo com a produção cardíaca de ANP¹³.

Mannarino et al.⁷⁵ avaliam a correlação entre o BNP do sangue de cordão umbilical de gestações normais, em amostras de sangue de 29 recém-nascidos, e relacionam com parâmetros ecocardiográficos. As amostras de sangue são coletadas em três momentos: a primeira, do cordão umbilical (T0) e as outras coletadas de sangue periférico no terceiro dia após o nascimento (T1) e com 30 dias (T2). A ecocardiografia realizada nos dias T1 e T2 avalia a espessura do septo interventricular, diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (VE), espessura da parede posterior do VE, fração de encurtamento, massa ventricular (VE), relação entre o diâmetro do átrio esquerdo no final sístole e o diâmetro aórtico (LA/AO) e a

relação entre a velocidade de ejeção transmitral precoce e tardia (E/A). A média das concentrações plasmáticas de BNP encontradas são 8,6 pg/mL, 59,2 pg/mL, e 8,7 pg/mL, respectivamente, no parto, no terceiro dia e no 30º dia de vida. A análise demonstra que em recém-nascidos de termo e saudáveis, a idade gestacional, o tipo de parto, o peso e o sexo não afetam os níveis de BNP. Os autores acreditam que os níveis elevados de BNP são devido a diferentes períodos de tempo ou retardo do ajustamento fisiológico da circulação pós-natal; e parece ser situação transitória. Além disso, quando os parâmetros ecocardiográficos são normais, as concentrações de BNP retornam para níveis baixos em todos os recém-nascidos saudáveis. Os resultados encontrados confirmam que, em neonatos saudáveis e de termo, as concentrações de BNP no cordão umbilical são baixas⁷⁵.

Girsen et al.¹⁴ avaliam 42 fetos com restrição de crescimento estudando a hemodinâmica cardiovascular pela ultrassonografia com Doppler, analisando as funções sistólica e diastólica, os diâmetros e as velocidade de fluxo nas válvulas aórtica e pulmonar, fluxo volumétrico e débito cardíaco ventricular. Amostras de sangue da artéria umbilical são coletadas imediatamente após o parto para análise do NT-proBNP e NT-proANP. Concluem que, em fetos com restrição de crescimento, a secreção do peptídeo NT proBNP está aumentada quando ocorre o aumento da pós-carga cardíaca, e correlaciona significativamente com o índice de pulsatilidade do ducto venoso. Observam, também, que as artérias coronárias foram visualizadas mais frequentemente em fetos com insuficiência placentária mais grave e com velocidade de fluxo anormal no ducto venoso, sugerindo que o

aumento na pós-carga e o estresse na parede ventricular causam maior demanda de oxigênio pelo miocárdio, e que, embora esses fetos apresentem baixo valor de pO_2 na artéria umbilical ao nascimento, a vasodilatação nas artérias coronárias e o aumento no volume de fluxo coronário parecem ser capazes de compensar isso, mantendo adequado o suprimento para o miocárdio.¹⁴

Crispi et al.¹⁰ comparam 130 fetos com crescimento adequado para a idade gestacional com 81 fetos restritos divididos em três grupos de acordo com o fluxo diastólico final na artéria umbilical: presente, ausente ou reverso. Avaliam a função miocárdica pelo índice de performance miocárdica (IPM) modificado, o enchimento diastólico precoce e tardio, e o débito cardíaco. O nível de peptídeo natriurético do tipo B foi obtido por meio da dosagem no sangue da veia umbilical, coletado após o clampeamento do cordão no parto. Relatam que o IPM modificado eleva-se em fetos nos estágios iniciais de comprometimento hemodinâmico e progride com a deterioração fetal. O progressivo aumento nos valores do IPM modificado ocorre em todos os períodos de tempo que estão envolvidos no cálculo deste índice, o que sugere a existência de disfunção subclínica sistólica e diastólica. O débito cardíaco mantém valores normais, mesmo nos casos mais graves de restrição de crescimento. Os valores de BNP estão elevados, de forma significativa, em todos os grupos com restrição de crescimento quando comparado com os fetos de crescimento adequado. Concluem que o IPM modificado e o BNP estão significativamente aumentados nos fetos com restrição

de crescimento que foram a óbito em comparação com os fetos que sobreviveram.¹⁰

Kanbe et al.⁷⁶ avaliam 280 recém-nascidos admitidos em unidade de terapia intensiva neonatal com idade gestacional média de 35 semanas e peso médio ao nascimento 2202 g. O ANP e o BNP plasmáticos, obtidos em amostras do sangue da veia umbilical coletadas imediatamente após o nascimento, são comparados com informações clínicas do recém-nascido, e com variáveis antenatais como: peso ao nascer, idade gestacional, sexo, gestação múltipla, presença de diabetes mellitus, doença hipertensiva da gestação, RCF, diagnóstico de corioamnionite, rotura prematura de membranas, sofrimento fetal (desacelerações variáveis ou tardias identificadas a cardiotocografia), operação cesariana, arritmia fetal, doença cardíaca congênita e administração antenatal de corticóides, ritodrina e/ou sulfato de magnésio. Também são comparados os índices de Apgar, pH e presença de desconforto respiratório com necessidade de oxigênio e/ou ventilação mecânica ao nascimento. O ANP mostra correlação positiva com: gestação múltipla, diabetes materno, sofrimento fetal, operação cesariana e uso de sulfato de magnésio antenatal. Os níveis de BNP correlacionam-se com: peso ao nascer, idade gestacional, gestação múltipla, operação cesariana, uso de ritodina e/ou sulfato de magnésio antenatal, sofrimento fetal, RCF, diabetes materno, corioamnionite e doença cardíaca congênita. Níveis elevados de BNP são associados com baixos índices de Apgar, no primeiro e quinto minutos, e necessidade de suporte respiratório. Concluem que o ANP e o BNP são potenciais marcadores do estresse

antenatal latente e ressaltam a necessidade da realização de estudos adicionais associando os valores dos peptídeos com os resultados neonatais.

Arad et al.⁷⁷ estudam a associação dos níveis de interleucina 6 e NT-proBNP em prematuros que nasceram antes da 32ª semana de gestação; e analisam a associação com variáveis perinatais. Dados demográficos, obstétricos, perinatais e neonatais são obtidos dos arquivos de dois hospitais. O peso médio dos recém-nascidos é de 1170 g e a idade gestacional de 28 semanas. Encontram associação entre a elevação dos níveis de NT-proBNP e de interleucina 6, dosados em sangue do cordão umbilical, e índices de Apgar do primeiro minuto, o que pode indicar algum grau de disfunção cardíaca. Não observam associação com outras variáveis pós-natais como síndrome do desconforto respiratório, ducto arterioso patente, enterocolite necrosante, leucomalácia periventricular, retinopatia da prematuridade, hemorragia intraventricular, números de dias de ventilação e mortalidade. Após ajuste para a idade gestacional, é demonstrada correlação positiva entre interleucina 6 e NT-proBNP, nos recém-nascidos entre 24 e 27 semanas, mas não entre aqueles com maior idade gestacional. As duas variáveis estão implicadas na disfunção cardíaca neonatal, mas, inicialmente o processo patogênico parece ser inflamatório, e, em segundo momento, associado à pressão mecânica. Entretanto, os autores ressaltam que os resultados encontrados não fornecem subsídios suficientes para a utilização desses marcadores na predição dos resultados neonatais.⁷⁷

Bahlmann et al.¹⁶ selecionam 38 fetos com crescimento adequado para a idade gestacional e 41 fetos com RCF e DZ (24 fetos) ou ou DR (17 fetos) na artéria umbilical, realizando coleta de sangue da veia umbilical para dosagem do proANP e NT-proBNP, via cordocentese, nos fetos com crescimento apropriado, e da veia ou artéria umbilical imediatamente após o parto nos com RCF. Estudam o Doppler com análise das velocidades de fluxo das artérias umbilical, cerebral média e aorta descendente, e ducto venoso. Os resultados mostram que as concentrações de NT-proANP e de NT-proBNP estão aumentadas na deterioração dos parâmetros de Doppler, tanto arterial quanto venoso, e que o Doppler do ducto venoso é o parâmetro que mais fortemente se correlaciona com os níveis dos peptídeos natriuréticos.

Benavides-Serralde et al.⁷⁸ avaliam 72 gestações complicadas com RCF, entre 20 e 36 semanas, para o estudo de novos parâmetros na circulação central e periférica, em relação à deterioração progressiva do fluxo na artéria umbilical. Os fluxos investigados são: artéria umbilical, cerebral média e anterior, índice de fluxo do istmo aórtico, IPM modificado, ducto venoso, artéria renal, artéria femoral e índice de líquido amniótico (ILA), todos avaliados semanalmente até o parto. Cento e quarenta e nove fetos, com peso adequado para a idade gestacional, foram selecionados entre pacientes saudáveis para construção de curvas de referência para a artéria renal e femoral, entre 20 e 36 semanas de gestação. Os autores classificam a deterioração hemodinâmica fetal de acordo com o índice de pulsatilidade (IP) da artéria umbilical. No grupo um, o IP da artéria

umbilical era normal; no grupo dois o IP-AU é > que o p95 e < que o p99; no grupo três há DZ na artéria umbilical e no grupo quatro DR. Obtêm como resultados que a idade gestacional de inclusão no estudo, do parto e o peso fetal são significativamente mais baixos, e a mortalidade perinatal significativamente mais alta no grupo quatro. Os resultados do Doppler e da ultrassonografia mostram que, mesmo em fetos do grupo um, há sinais de deterioração hemodinâmica precoce, expressa pelo aumento do IPM modificado e redução do IP da artéria cerebral anterior. Os sinais de deterioração são observados em sequência no IP do ducto venoso, ILA, IP da artéria cerebral média e IFI, que se tornam anormais a partir do grupo dois.⁷⁸

O BNP também tem sido utilizado no acompanhamento de população pediátrica com doenças cardiovasculares. As concentrações séricas encontram-se aumentadas em crianças com disfunção sistólica crônica de ventrículo esquerdo, quando comparado com crianças saudáveis, e também parece associar-se com o tempo de hospitalização, de espera para transplante cardíaco e com o óbito⁷⁹.

Crispi et al.¹⁵ avaliam casos de gestações complicadas com RCF, associadas ou não ao diagnóstico de pré-eclâmpsia, e verificam associação entre a resposta cardíaca fetal e a concentração do BNP no sangue de cordão umbilical. Os níveis de BNP foram significativamente maiores nos fetos com RCF, acompanhados ou não por pré-eclâmpsia, quando comparados com os adequados para a idade gestacional. Todavia, as concentrações de BNP foram similares entre os casos de

RCF com ou sem pré-eclâmpsia, e os fetos restritos mostram sinais ecocardiográficos e bioquímicos de disfunção cardíaca.

Portanto, carecem estudos que abordem diretamente a associação entre os parâmetros dopplervelocimétricos da circulação fetal e as alterações no BNP em sangue de cordão umbilical no nascimento, em situações de insuficiência placentária.

4 Métodos

Esta pesquisa prospectiva, transversal e observacional foi desenvolvida na Clínica Obstétrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), abrangendo o período entre março de 2010 e maio de 2012.

O projeto de pesquisa e o termo de consentimento livre e esclarecido foram aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa do HCFMUSP – CAPPesq (Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa), protocolado sob o número 0096/10 (anexos A e B).

4.1 CASUÍSTICA

Foram convidadas a participar deste estudo transversal, mulheres com gestação única complicada por insuficiência placentária internadas na Clínica Obstétrica do HCFMUSP.

4.1.1 Critérios de inclusão

Foram incluídas no estudo as gestantes com os seguintes critérios:

- Gestação única;
- Feto vivo
- Membranas íntegras;

- Insuficiência placentária caracterizada pela dopplervelocimetria de artéria umbilical anormal;
- Ausência de anomalias congênitas fetais ou cromossômicas;

4.1.2 Critérios de exclusão

Foram excluídas as pacientes que apresentaram os seguintes critérios:

- Diagnóstico pós-natal de malformação fetal e ou cromossomopatia;
- Falha na dosagem do BNP.

4.2 COLETA DE DADOS

As gestantes internadas na da Clínica Obstétrica do HCFMUSP acompanhadas pelo setor de Vitalidade fetal que preencheram os critérios de inclusão foram convidadas a participar do estudo. Após esclarecimento dos objetivos da pesquisa e dos exames a que seriam submetidas, foi solicitado o consentimento da paciente pelo termo em anexo.

Desde 2005, o protocolo clínico adotado pela Clínica Obstétrica do HCFMUSP para o tratamento da insuficiência placentária grave é baseado- no monitoramento fetal diário e estudos de Doppler, adotando-se atitude ativa frente à deterioração da circulação venosa fetal (ducto venoso). A decisão pelo parto é feita individualmente, com base em dados clínicos da mãe e do estado de vitalidade fetal

(dopplervelocimetria, cardiotocografia e perfil biofísico fetal). A ocorrência de qualquer das seguintes alterações caracteriza deterioração da condição fetal: baixa variabilidade da frequência cardíaca fetal (<5 bpm) ou desacelerações tardias, a pontuação do perfil biofísico fetal anormal (≤ 6), ou índice de pulsatilidade para veias (IPV) maior que 1,0. O IPV do ducto venoso entre 1,0-1,5 indica a necessidade de administração de corticóides e parto em 48h.

4.3 AVALIAÇÃO DA CIRCULAÇÃO FETAL PELA DOPPLERVELOCIMETRIA

Os exames de Doppler foram realizados com um aparelho de ultrassom em tempo real (Envisor, Philips) equipado com um transdutor de 3,5-MHz. O filtro foi fixado no mínimo. O tamanho do volume da amostra foi adaptado para o diâmetro de cada vaso. Todos os sonogramas utilizados para análise foram obtidos na ausência de movimentações corpóreas fetais e de movimentos respiratórios, com frequência cardíaca fetal de 120 a 160 bpm. O ângulo de insonação foi sempre mantido abaixo de 30 graus.

4.3.1 Artéria Umbilical

O Doppler da artéria umbilical foi registrado em segmento do cordão próximo de sua inserção na placenta (Figura 3). A obtenção do sonograma foi

realizada em, pelo menos, três momentos diferentes durante a realização do exame, ativando-se o dispositivo de Doppler até a obtenção de ondas uniformes. Para obtenção dos índices dopplervelocimétricos foi utilizada a demarcação manual ou automática do sonograma e o equipamento realizou o cálculo do IP. Foi caracterizado como anormal o valor do IP da AU acima do percentil 95 para a idade gestacional⁸⁰. A ausência de fluxo diastólico final na dopplervelocimetria da AU, confirmada em pelo menos três sonogramas, caracterizou o diagnóstico de DZ. A ocorrência de fluxo diastólico reverso foi denominada de DR.

Figura 3 - Dopplervelocimetria da artéria umbilical do cordão próximo à inserção placentária

4.3.2 Artéria cerebral média

A artéria cerebral média fetal foi identificada da seguinte forma: o polígono de Willis foi identificado no polo cefálico fetal ao nível dos pedúnculos cerebrais usando o modo colorido do Doppler (Figura 4). A artéria foi observada passando anteriormente aos pedúnculos, perto da asa maior do osso esfenóide,

utilizando-se ângulo de insonação próximo a zero. O volume de amostra foi colocado a, aproximadamente, um centímetro de sua origem. Foi realizada a insonação preferencialmente na janela anterior (têmporo-occipital) para obtenção de, pelo menos, três sonogramas em momentos diferentes durante a realização do exame; e foi mensurado o IP. Também foi calculada a RCP, pela divisão do IP da artéria cerebral média pelo IP da artéria umbilical.

Figura 4 - Dopplervelocimetria da artéria cerebral média em sua porção inicial com ângulo de insonação inferior a 20 graus

4.3.3 Ducto venoso

O Doppler do ducto venoso foi obtido em secção transversal oblíqua do abdome fetal. Identificou-se a porção intra-abdominal da veia umbilical, com auxílio do mapeamento colorido de fluxo; e o sonograma característico foi obtido na porção inicial do vaso, onde ocorre turbilhonamento do sangue, provocando efeito de mistura de cores (efeito *aliasing*).

Após a obtenção de ondas uniformes, foi calculado o índice de pulsatilidade para veias (IPV), a partir do contorno manual da onda (Figura 5).

Figura 5 - Dopplervelocimetria do ducto venoso, em corte transverso do abdome fetal

4.4 COLETA DE SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL

Imediatamente após o parto, amostras de sangue do cordão umbilical foram coletadas para a medição do pH no nascimento e BNP. Utilizamos o teste i-STAT BNP (Abbott®) (Figura 6) que consiste num teste de diagnóstico para a medição quantitativa do peptídeo natriurético tipo B em amostras de sangue total ou plasma, utilizando o EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid) - como anticoagulante. O cartucho de testes i-STAT BNP utiliza o método de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) em dois locais^{81,82}. Os anticorpos específicos para o BNP estão localizados no sensor eletroquímico instalado em um chip de silicone. Em outro local do chip está também depositado o conjugado enzimático de fosfatase alcalina/anticorpo específico da porção separada da molécula BNP. Assim, a amostra de sangue, total ou plasma, entra em contato com os sensores, permitindo a

dissolução do conjugado enzimático da amostra. O BNP na amostra fixa-se com a fosfatase alcalina, e é arrastado para a superfície do sensor eletroquímico durante o período de incubação, de, aproximadamente, sete minutos. O equipamento procede com a lavagem dos sensores, para retirar a amostra bem como do conjugado enzimático em excesso. No fluido de lavagem encontra-se o substrato para a enzima de fosfatase alcalina. A enzima ligada ao complexo anticorpo/antígeno/anticorpo cinde o substrato liberando produto detectável eletroquimicamente. O sensor eletroquímico mede este produto enzimático que é proporcional à concentração de BNP presente na amostra. O teste i-STAT BNP apresentou os resultados no intervalo de 15-5000 pg/mL (ng/L). As amostras abaixo do intervalo exposto apresentaram o resultado “<15 pg/mL”, e as amostras acima do intervalo exposto apresentaram o resultado “> 5000 pg/mL”.

Figura 6 - Analisador de sangue portátil i-STAT (A) e cartucho i-STAT BNP (B)

O cartucho i-STAT BNP necessita de um volume de amostra mínimo de 17 μ L para ficar cheio. Quantidades superiores não afetam os resultados. Para

obter os melhores resultados, as amostras devem ser bem misturadas antes de serem transferidas para o cartucho. Logo após o cartucho estar cheio, a porta da amostra deve ser fechada e o cartucho foi inserido no analisador para leitura das concentrações de BNP⁸¹.

4.5 DADOS DO PARTO E DO RECÉM-NASCIDO

Os dados referentes ao parto e RN foram obtidos no prontuário da paciente ou por consulta ao livro de partos, assim como ligação telefônica para a paciente após o parto.

4.5.1 Idade gestacional

A idade gestacional no momento do parto foi calculada com base na data da última menstruação, concordante com a datação por ultrassonografia realizada no primeiro trimestre, ou quando a data da última menstruação era incerta, o cálculo foi realizado por duas ultrassonografias concordantes efetuadas entre a 12ª e a 20ª semanas.

4.5.2 Peso do recém-nascido

O peso do recém-nascido (em gramas) efetuado no Centro Obstétrico imediatamente após os primeiros cuidados neonatais.

4.5.3 Índices de Apgar

O escore de Apgar foi utilizado para a avaliação do recém-nascido no momento do nascimento, avaliando-se a frequência cardíaca, esforço respiratório, tônus muscular, irritabilidade reflexa e cor no primeiro, quinto e décimo minutos após o nascimento. Índices maiores ou iguais a sete foram considerados normais.

4.6 VARIÁVEIS ANALISADAS

As características maternas pesquisadas foram:

- Idade (anos);
- Paridade (número);
- Doenças maternas;

Testes de vitalidade fetal

- Cardiotocografia (normal, anormal);
- Perfil biofísico fetal (0 a 10);
- Índice de líquido amniótico (cm);

Dopplervelocimetria

- IP da artéria umbilical (valores absolutos e escore zeta);
- IP da artéria cerebral média (valores absolutos e escore zeta);
- RCP (valores absolutos e escore zeta)
- IPV do ducto venoso (valores absolutos e escore zeta).

Dados do parto e do recém-nascido

- Idade gestacional (semanas);
- pH de artéria umbilical;
- BNP de sangue de cordão umbilical (pg/mL);
- Peso do recém-nascido (g);
- Índices de Apgar de primeiro, quinto minuto e décimo minuto.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados usando o programa Medcalc para Windows, versão 11.5 (Medcalc Software, Bélgica). Os resultados foram apresentados na forma de médias, medianas, desvios-padrão, frequências absolutas e relativas.

Os valores absolutos dos índices dopplervelocimétricos foram convertidos em “z-score” ou zeta score (escore-z), de acordo com os valores de normalidade para cada vaso e idade gestacional (AU, ACM, RCP e DV)^{83,84}. Trata-se de parâmetro estatístico que indica quantos desvios-padrão o valor observado está em relação à média para cada idade gestacional. Para o cálculo do escore-z é necessário aplicar a seguinte fórmula:

$$z = (x - \mu) / DP$$

z: zeta score

x: valor absoluto de uma avaliação

μ : média para a idade gestacional

DP: desvio padrão para a idade gestacional

As correlações entre os escores zeta dos parâmetros de Doppler e os valores do BNP de cordão umbilical no momento do nascimento foram determinadas utilizando-se a análise de regressão. Os parâmetros Doppler venoso foram correlacionados ao BNP no nascimento pelos coeficientes de correlação de Spearman (ρ). A análise de regressão linear múltipla foi usada, para identificação das variáveis independentes relacionadas com o BNP no nascimento. Como o efeito da idade gestacional nas concentrações de BNP no nascimento não é conhecido,

este parâmetro também foi incluído no modelo. O nível de significância foi estabelecido em $P < 0,05$ para todos os testes.

4.8 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO

A casuística foi composta de 32 gestações de acordo com os critérios de inclusão propostos. Todas foram avaliadas pelo Setor de Vitalidade da Clínica Obstétrica, para acompanhamento da insuficiência placentária e realização da avaliação da dopplervelocimetria fetal. As características maternas e os dados obstétricos estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Características maternas, neonatais e parâmetros de dopplervelocimetria antenatal em gestações com insuficiência placentária (N = 32) - HCFMUSP -2010 a 2012

Característica	Valor
Idade materna (anos)	29,3 (7,7)
Nulíparas	14 (43,7%)
Doença materna	
Hipertensão arterial	18(56%)
Colagenose	4(12,5%)
Cardiopatía materna	4(12,5%)
Diabetes	2(6,3%)
Idade gestacional no parto (semanas)	32,3 (3,1)
Peso do recém-nascido (g)	1236 (453)
Apgar 1º min < 7	10 (31,3%)
Apgar 5º min < 7	2 (6,3%)
pH no nascimento	7,19 (0,10)
pH < 7,20	13 (40,6%)
BNP (pg/mL)	292 (29 a 5000)

Dados expressos em n (%), média (DP) ou mediana (mínimo a máximo)

5 Resultados

Um total de 32 gestações de alto risco preencheram os critérios de inclusão e as medidas de Doppler foram obtidas satisfatoriamente em todos os casos. Dados referentes à vitalidade fetal também foram analisados.

5.1 CARDIOTOCOGRAFIA E PERFIL BIOFÍSICO FETAL

A distribuição dos casos de acordo com os resultados do perfil biofísico fetal está apresentada na tabela 2.

Tabela 2 - Distribuição de acordo com os resultados da cardiotocografia, perfil biofísico fetal e índice de líquido amniótico em gestações com insuficiência placentária (N=32) - HCFMUSP - 2010 a 2012

Teste de vitalidade fetal	Resultados
Cardiotocografia	
Normal	10 (31,2%)
Suspeita	20 (62,5%)
Alterada	2 (6,2%)
Perfil Biofísico Fetal	
8 ou 10	25 (78,0%)
6	5 (15,6%)
≤ 4	2 (6,2%)
Volume de LA	
Índice de líquido amniótico	8,0 (3,1)
Oligohidrâmnio	7 (21,9%)

Dados expressos em n (%) ou média (DP)

5.2 DOPPLERVELOCIMETRIA DA CIRCULAÇÃO FETAL

As características dos índices dopplervelocimétricos dos territórios da circulação fetal (AU, ACM, RCP e DV) estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Médias, desvios-padrão, medianas, mínimos e máximos dos índices dopplervelocimétricos em gestações com insuficiência placentária (N=32) - HCFMUSP - 2010 a 2012

Dopplervelocimetria	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Artéria umbilical					
IP	2,18	1,14	1,79	1,19	6,98
Escore zeta	7,20	6,62	5,30	2,30	34,77
Artéria cerebral média					
IP	1,31	0,36	1,25	0,79	2,53
Escore zeta	-1,91	1,47	-1,86	-4,36	3,79
Relação cerebroplacentária					
IP	0,71	0,35	0,66	0,19	1,71
Escore zeta	-3,09	1,17	-3,14	-5,96	-0,86
Ducto venoso					
IPV	0,89	0,39	0,80	0,28	1,90
Escore zeta	1,37	2,77	074	-2,99	8,65

IP: índice de pulsatilidade; IPV: índice de pulsatilidade para veias.

A distribuição dos casos de acordo com as características da dopplervelocimetria da artéria umbilical está demonstrada na figura 7. Na população analisada, 21 pacientes apresentavam fluxo diastólico positivo, cinco com diástole zero e seis com diástole reversa.

Figura 7 - Distribuição dos casos de acordo com o fluxo diastólico final na dopplervelocimetria da artéria umbilical em gestações com insuficiência placentária (N=32) - HCFMUSP - 2010 a 2012

5.3 CORRELAÇÃO ENTRE BNP NO NASCIMENTO E DOPPLERVELOCIMETRIA

A concentração de BNP em sangue de cordão umbilical no nascimento apresentou correlação significativa com os parâmetros da dopplervelocimetria, com exceção dos resultados referentes à ACM (Tabela 4). Nota-se que a correlação foi positiva ($P < 0,05$) com os parâmetros da AU e do DV, tanto quanto ao valor absoluto dos índices como quando avaliados pelo escore zeta. Na análise da RCP, verifica-se

correlação negativa ($P < 0,05$) entre os níveis do BNP no nascimento e os valores absolutos e do escore zeta da RCP.

Tabela 4 - Correlações entre o BNP no nascimento e os parâmetros de dopplervelocimetria em gestações com insuficiência placentária (N=32) - HCFMUSP - 2010 a 2012

Dopplervelocimetria	Coefficiente de Spearman (rho)	P	IC 95% p/ rho
Artéria umbilical			
IP	0,46	0,009	1,13 a 0,70
escore zeta	0,43	0,016	0,09 a 0,67
Artéria cerebral média			
IP	-0,20	0,267	-0,52 a 0,16
escore zeta	-0,19	0,288	-0,51 a 0,17
Relação cerebroplacentária			
RCP	-0,44	0,011	-0,69 a -0,11
escore zeta	-0,35	0,048	-0,62 a 0,01
Ducto venoso			
IPV	0,62	<0,001	0,34 a 0,80
escore zeta	0,61	<0,001	0,34 a 0,79

BNP, peptídeo natriurético tipo B; IP, índice de pulsatilidade; IPV, índice de pulsatilidade para veias; RCP, relação cerebroplacentária.

5.4 CORRELAÇÃO ENTRE BNP NO NASCIMENTO E DADOS DO PARTO

A concentração de BNP em sangue de cordão umbilical no nascimento apresentou correlação positiva significativa com a idade gestacional no parto, pH de artéria umbilical no nascimento e índice de Apgar de 1º minuto (Tabela 5).

Tabela 5 - Correlações entre o BNP no nascimento e os parâmetros do nascimento em gestações com insuficiência placentária (N=32) - HCFMUSP - 2010 a 2012

Parâmetro	Coefficiente de Spearman (rho)	P	IC 95% p/ rho
Idade gestacional no parto	-0,51	0,003	-0,73 a -0,20
pH de artéria umbilical no nascimento	-0,39	0,031	-0,66 a -0,04
Índice de Apgar de 1º minuto	-0,45	0,01	-0,69 a -0,12
Índice de Apgar de 5º minuto	-0,32	0,08	-0,60 a 0,04

5.5 REGRESSÃO MÚLTIPLA

A Tabela 6 mostra os resultados da análise de regressão múltipla. O escore zeta do IPV do DV é parâmetro associado significativamente com os valores de BNP no nascimento, após o ajuste para os demais fatores ($P = 0,011$).

Tabela 6 – Análise de regressão múltipla com coeficientes de regressão e de correlação das variáveis analisadas com a variável dependente (BNP no nascimento) em gestações com insuficiência placentária (N=32) - HCFMUSP - 2010 a 2012

Variáveis	Coeficiente	Erro padrão	r_{parcial}	t	P
Constante	-1997,99				
IPV do ducto venoso (escore zeta)	191,41	66,35	0,49	2,89	0,008
IP da artéria umbilical (escore zeta)	39,61	27,79	0,27	1,43	0,166
Relação cerebroplacentária (escore zeta)	-78,67	142,79	-0,11	-0,55	0,586
Idade gestacional no parto (semanas)	58,92	61,10	0,18	0,96	0,343

IP: índice de pulsatilidade; IPV: índice de pulsatilidade para veias.

5.6 GRÁFICOS DE REGRESSÃO

A correlação entre os valores do BNP no nascimento e o IPV do DV está demonstrada no gráfico 1.

Gráfico 1 – Gráfico de correlação entre o valor do BNP no nascimento e o escore zeta do IPV do ducto venoso em gestações com insuficiência placentária. ($F=18,8$; $P<0,001$; equação de regressão $\text{Log}[\text{BNP}] = 2,34 + 0,13 \cdot \text{DV}$). HCFMUSP - 2010 a 2012

6 Discussão

Este estudo, realizado em fetos de gestações com insuficiência placentária, permitiu verificar que o aumento do IPV do ducto venoso (escore zeta) reflete o grau de disfunção cardíaca fetal, constatado pela elevação dos níveis do BNP em sangue de cordão umbilical no nascimento. Além disso, os níveis do BNP fetal foi negativamente correlacionado com o pH no nascimento, o que demonstra a importância do efeito da acidemia no organismo do concepto.

A RCF é complicação da disfunção placentária caracterizada por aumento da resistência no leito placentário, evidenciada pelas anormalidades na dopplervelocimetria da artéria umbilical^{5,8}. A fim de avaliar a patogênese do comprometimento fetal, é importante ter em conta as adaptações na circulação fetal à hipoxia. Muitos estudos têm demonstrado que vários órgãos e sistemas têm resposta adaptativa à privação de oxigênio^{33,36,39}. O sangue rico em oxigênio e nutrientes atinge o feto pela veia umbilical; e o ducto venoso é uma intercomunicação que se origina nesta veia conectando com a veia cava inferior. Na resposta adaptativa à hipoxemia fetal crônica, verifica-se incremento do fluxo sanguíneo direcionado ao ducto, e conseqüentemente para o coração. Com o agravamento da função placentária e deterioração progressiva da oxigenação fetal, a acidemia fetal pode se instalar e danificar os órgãos essenciais. A relação entre a acidemia fetal e aumento do IPV do ducto venoso é bem conhecida e estudada por

vários autores^{2,3,35,37,40,85-87}. Revisões sistemáticas tem demonstrado que o Doppler do ducto venoso anormal tem acurácia moderada em predizer o comprometimento geral no bem estar fetal e a mortalidade perinatal em gestações de alto risco com insuficiência placentária^{88,89}. O estudo da circulação venosa fetal, nos casos de insuficiência placentária, tem possibilitado verificar as alterações decorrentes das adaptações hemodinâmicas no feto com restrição de crescimento⁹⁰.

Tem se reconhecido que as alterações nos padrões dopplervelocimétricos da artéria umbilical refletem a resistência ao fluxo de sangue para a placenta, e as alterações no índice de pulsatilidade deste vaso correlacionam-se com a condição fetal e o resultado da gravidez^{85,91,92}. Girsen et al.¹⁴ analisam as concentrações de ANP e BNP no sangue de cordão umbilical de fetos restritos e constataam que o grupo com IP da artéria umbilical anormal e IPV de ducto venoso normal apresentam maiores níveis de ANP, mas não de BNP, quando comparados com grupo controle de fetos de crescimento adequado. Quando ambos os parâmetros estão anormais (artéria umbilical e ducto venoso), verificam aumento de ANP e de BNP, demonstrando serem estes os casos de maior gravidade e comprometimento cardíaco fetal. No entanto, esses autores não analisam a correlação entre os parâmetros dopplervelocimétricos fetais e as concentrações dos peptídeos natriuréticos.

A relação entre o IP da artéria umbilical e as concentrações de ANP e BNP é analisada por Bahlmann et al.¹⁶ Nesse estudo, realizado em casos de DZ ou DR, verifica-se que as concentrações séricas dos peptídeos natriuréticos estão aumentadas na presença de deterioração dos parâmetros de fluxo do Doppler

umbilical. Entretanto, os autores não encontram correlação significativa da concentração de BNP com o IP da artéria umbilical quando os resultados são ajustados para a idade gestacional. Na presente pesquisa, foi constatada correlação positiva e significativa entre o IP da artéria umbilical e o valor do BNP no nascimento, confirmando maior repercussão cardíaca fetal nos casos de maior resistência no território placentário. Apesar disso, na análise da regressão múltipla, este parâmetro não é identificado como fator independente do desfecho, pois o IPV do ducto venoso demonstra ser o principal preditor para a disfunção cardíaca fetal.

A diminuição significativa na oxigenação fetal na insuficiência placentária está associada com uma vasodilatação da circulação cerebral fetal e consequente redução do IP da artéria cerebral média. Alterações isoladas no fluxo sanguíneo cerebral são consideradas modificações iniciais no processo da resposta fetal compensatória, com redução da RCP na acidemia no nascimento^{6,40}. Quanto à associação entre os parâmetros da dopplervelocimetria da artéria cerebral média e o BNP no nascimento, Bahlman et al.¹⁶ verificam que fetos restritos com DZ ou DR apresentam maior concentração de BNP no nascimento, com IP da artéria cerebral média significativamente menor que o grupo com crescimento fetal adequado, mas não constata correlação entre as concentrações de BNP e os índices da artéria cerebral média. De forma semelhante, no presente estudo, os valores do IP da artéria cerebral média não apresentou correlação com os níveis do BNP no nascimento, enquanto que, na análise univariada da RCP, esta se mostrou significativamente associada com o marcador bioquímico de disfunção cardíaca fetal.

Apesar disso, na regressão múltipla, a RCP não resta como fator significativo para a correlação com o BNP fetal.

Em estudo realizado por Barra²⁷, são comparadas as concentrações de BNP de sangue de cordão umbilical no nascimento em três grupos de fetos: seis com RCF e centralização (avaliada pelo índice umbilicocerebral $> 1,2$), seis com RCF e sem centralização e 16 com crescimento adequado. O grupo com centralização do fluxo e RCF apresentam maiores concentrações de BNP em sangue de cordão umbilical quando comparados aos sem centralização e aos com crescimento normal. O mesmo foi descrito para a análise do ANP, e a autora relata que os fetos com RCF e fluxo cerebral normal comportaram-se de forma semelhante aos com crescimento adequado. Na análise de regressão, a autora encontra correlação significativa ($P=0,027$) e positiva entre o BNP e o índice umbilicocerebral.

O estudo do coração fetal tem permitido avaliação pormenorizada da anatomia e fornece informações relevantes sobre a função cardíaca fetal, tanto em situações fisiológicas quanto em situações que cursam com alterações hemodinâmicas^{9,15}. Na insuficiência placentária, mecanismos adaptativos fetais ocorrem na tentativa de manter a homeostase circulatória, com fluxos preferenciais para determinados órgãos, notadamente o coração e cérebro.

O coração fetal não pode mais ser excluído da avaliação em gestações complicadas por insuficiência placentária visto que o músculo cardíaco faz parte do sistema circulatório materno-placentário-fetal. Sua função de bomba propulsora, e as intercomunicações características da circulação fetal, permitem a oferta de sangue oxigenado e rico em nutrientes para o organismo fetal, com prioridade para

o coração e cérebro. Entretanto, quando ocorrem situações que ocasionam aumento da resistência nas artérias umbilicais, pode haver maior sobrecarga cardíaca, fazendo com que o mesmo tenha que modificar o seu funcionamento para que o suprimento fetal não sofra alteração.

Na resposta cardiovascular à hipoxia, inicialmente não são observadas alterações significativas sobre o coração, pois a disfunção é, muitas vezes, subclínica, requerendo métodos sensíveis para a sua detecção⁹³. Com o aumento da pós-carga, a fração de ejeção se deteriora apenas em estágios tardios, o que sugere que a disfunção sistólica é demonstrável apenas nos casos de grave acometimento¹¹. Estudos recentes, utilizando Doppler tecidual, demonstram que o pico de velocidade sistólica anular está reduzido nas fases iniciais da RCF, antes de serem evidenciadas alterações no ducto venoso^{94,95}, e alterações na velocidade diastólica também são evidenciadas por este método⁹⁶

A distensão observada nas paredes cardíacas cursa com alterações ao nível da célula miocárdica, que pode liberar substâncias vasoativas e em casos mais graves, substâncias sabidamente associadas à lesão miocárdica. A elevação da troponina T cardíaca fetal é observada em gestações que cursam com alterações circulatórias, com alteração de fluxo no ducto venoso, ressaltando correlação com a elevação do índice de pulsatilidade para veias^{46,47}. De forma semelhante, é descrito aumento da concentração de troponina I no sangue de cordão umbilical, associado às alterações no ducto venoso, em casos de RCF^{10,97}. Além disso, Makikallio et al.¹³ relatam que a pulsatilidade no território venoso sistêmico fetal apresenta correlação significativa com a secreção cardíaca do ANP, e verificam que a lesão miocárdica

fetal demonstra estar acompanhada de aumento da pressão venosa sistêmica, com alteração na distribuição do débito cardíaco para o ventrículo esquerdo e aumento na pós-carga do ventrículo direito.

A avaliação do fluxo sanguíneo pelo Doppler do ducto venoso demonstra ser parâmetro útil para indicar anormalidades na circulação, indicativas de descompensação cardiovascular fetal. Girsen et al.¹⁴ constatam que o aumento da pós-carga cardíaca e o padrão da pulsatilidade no Doppler do ducto venoso estão associados a elevadas concentrações de BNP no cordão umbilical, em fetos restritos. Esses autores encontram correlação significativa e positiva entre os valores absolutos do IPV do ducto venoso ($r=0,70$, $P=0,0001$), resultado esse semelhante ao do presente estudo ($r=0,62$, $P<0,001$).

A insuficiência placentária grave, que evolui com DZ ou DR nas artérias umbilicais, é situação de elevada morbidade e mortalidade perinatais^{98,99}. Bahlmann et al.¹⁶ estudam índices dopplervelocimétricos das artérias umbilicais, cerebral média, aorta e do ducto venoso, comparando com as concentrações do BNP em fetos com DZ e DR. Verificam que os parâmetros do Doppler do ducto venoso são os mais fortemente correlacionados com a concentração do BNP em sangue de cordão umbilical. Esse resultado é semelhante ao constatado no presente estudo, entretanto, o coeficiente de correlação observado por Bahlmann et al.¹⁶ para o IPV do ducto venoso ($r=0,42$) foi menor que o observado nesta casuística ($r=0,62$). Após correção para a idade gestacional, os referidos autores encontram correlação significativa apenas com a velocidade sistólica no ducto venoso ($r=0,49$), e não com o IPV desse vaso ($r=0,22$). Na presente casuística, após ajuste pela regressão múltipla,

o escore zeta do IPV do ducto venoso foi identificado como melhor preditor independente para o valor do BNP ($r=0,49$). Essas diferenças podem ser justificadas pela maior gravidade dos casos incluídos no estudo de Bahlmann et al.¹⁶, bem como pela correção efetuada por escore zeta na presente casuística.

Tem sido demonstrado que a concentração do BNP no sangue de cordão umbilical no nascimento poderia prever a disfunção cardíaca neonatal, logo após o parto¹⁰⁰. Além disso, fetos com crescimento restrito podem apresentar disfunção sistólica e diastólica nos primeiros seis meses de vida, e qualquer doença que possa se desenvolver nesse período pode afetar negativamente a estabilidade hemodinâmica dessas crianças, com maior risco de resultados adversos¹⁰¹. As adaptações cardiovasculares no período intrauterino podem interferir na programação fetal e persistir como formas subclínicas de disfunção cardíaca e vascular¹⁰²⁻¹⁰⁶. Portanto, o melhor conhecimento de parâmetros de Doppler, capazes de preverem a disfunção miocárdica fetal, é de grande utilidade no manejo das gestações que cursam com a RCF.

No presente estudo foi demonstrada a correlação significativa e positiva entre o IPV do ducto venoso e o marcador bioquímico de disfunção cardíaca fetal - BNP, tanto na análise univariada como na regressão múltipla. Dessa forma, depreende-se que seus valores podem auxiliar na estratificação da gravidade clínica do comprometimento cardíaco fetal, auxiliando na tomada de decisões sobre o momento ideal para a resolução da gravidez, na insuficiência placentária.

A limitação deste estudo foi a falta de conhecimento das mudanças longitudinais na avaliação Doppler. Além disso, é necessário investigar a relação do

fluxo venoso anormal e a magnitude do comprometimento cardiovascular dessas crianças. A ocorrência de dano cardíaco significativo, que possa predispor o organismo a doenças na idade adulta, pode ser investigada em estudos prospectivos, incluindo resultados com seguimento a longo prazo.

7 Conclusões

O presente estudo, realizado em gestantes com insuficiência placentária, analisou o BNP em sangue de cordão umbilical no nascimento, permitindo as seguintes conclusões:

- ✓ a disfunção cardíaca fetal correlaciona-se positivamente e de forma independente com os valores do escore zeta do IPV do DV;
- ✓ os valores do pH de artéria umbilical correlacionam-se negativamente com os valores do BNP no nascimento.

8 Anexos

Anexo 1 – Aprovação do projeto de pesquisa pela CAPPesq

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 10/03/2010, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0096/10**, intitulado: "**DETECÇÃO DA DISFUNÇÃO CARDÍACA PELO ESTUDO DA HEMODINÂMICA FETAL NA HIPOXIA**" apresentado pelo Departamento de **OBSTETRÍCIA E GINECOLOGIA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Profa. Dra. Roseli Mieke Yamamoto Nomura**
Pesquisador (a) Executante: **Verbênia Nunes Costa, Fabio Roberto Cabar, Seizo Miyadahira, Marcelo Zugaib**

CAPPesq, 11 de Março de 2010

Prof. Dr. Eduardo Massad
Presidente da Comissão de
Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP e da FMUSP Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo Rua Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar - CEP 05403 010 - São Paulo - SP Fone: 011 3069 6442 Fax: 011 3069 6492 e-mail: cappesq@hcnet.usp.br / secretariacappesq2@hcnet.usp.br

Anexo 2 – TCLE

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº: APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE: SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº: APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

**1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: DETECÇÃO DA DISFUNÇÃO CARDÍACA PELO ESTUDO DA
HEMODINÂMICA FETAL NA HIPOXIA**

PESQUISADOR: Roseli Mieke Yamamoto Nomura.....

CARGO/FUNÇÃO: Médica..... INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº CRMSP 59.590.....

UNIDADE DO HCFMUSP: Divisão de Clínica Obstétrica.....

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☒ RISCO MÉDIO ☐ RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 2 anos.....

1 – Estamos convidando-a para participar desta pesquisa que está sendo realizada com o objetivo de estudar os resultados de exames da circulação do feto (hemodinâmica fetal) que será realizado antes do nascimento do seu bebê, comparando os resultados com o exame de sangue colhido no cordão umbilical que fica junto da placenta, após o nascimento. Este exame da circulação do feto é o exame de Doppler, realizado no aparelho de ultrassonografia, onde avaliamos o fluxo de sangue que vai pelo cordão umbilical para a placenta e também verificamos a circulação nos vasos sanguíneos do feto, para saber se ele está tendo alterações decorrentes de problemas na placenta que provoquem dificuldades na sua oxigenação (hipoxia). Também estamos estudando as atividades do bebê no útero, pela avaliação dos movimentos e batimentos cardíacos fetal (monitoragem ou cardiotocografia fetal) e do líquido amniótico. Estamos estudando esses exames com o objetivo de verificar se as alterações na circulação do feto podem provocar alterações cardíacas no feto, por meio de exames laboratoriais realizados no sangue do cordão umbilical após o nascimento.

2 – Geralmente, as grávidas de alto risco realizam estes exames para verificar o bem estar do bebê. Na cardiotocografia colocamos dois transdutores que são fixados com cintas elásticas e vamos ouvir as batidas do coração do bebê e isso ficará registrado num traçado em papel. O exame da circulação do feto será realizado com equipamento de ultrassonografia em seguida para avaliar as atividades do bebê e o líquido amniótico.

3 – A avaliação do feto irá demorar cerca de meia hora, período em que você será submetida ao exame de Doppler e depois fará o exame de cardiotocografia acomodada em uma poltrona.

4 – Durante o exame os batimentos do coração do bebê serão ouvidos durante todo o período e caso ele se movimente, os transdutores e as cintas serão reajustadas para melhor ouvir o bebê.

5 – Esses exames não prejudicarão você ou seu bebê, não são invasivos e, como benefício, alterações fetais poderão ser detectadas. Caso seja identificado algum problema, providenciaremos o seguimento adequado para o caso.

6 – Você pode, a qualquer momento, solicitar esclarecimentos dos exames ou desistir da realização do exame, e isso não trará nenhum problema para o seu atendimento;

7 – Em qualquer momento, você pode ter os resultados dos exames feitos nesta pesquisa e resolver qualquer dúvida sobre o tipo do exame, riscos para você ou seu bebê e vantagens dos exames. Qualquer dúvida você poderá entrar em contato com a investigadora principal: Dra ROSELI M. Y. NOMURA, que pode ser encontrada no endereço Av Enéas de Carvalho Aguiar 255, 10º andar, sala 10.037, Clínica Obstétrica, TELS: 99373001, 30696209 para esclarecimento. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

8 – Você pode, também, desistir a qualquer momento de seu consentimento sem prejudicar seu atendimento neste hospital. Qualquer problema ou anormalidade, seu pré-natal será direcionado para setor especializado, neste mesmo hospital.

09 – Todos os seus dados e exames serão guardados em segredo, e seu nome não aparecerá em nenhum resultado nesta pesquisa.

10 – Qualquer resultado que você desejar saber sobre a pesquisa, será informado;

11 – Não há custeio de despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas e não há pagamento relacionado à sua participação.

12 – Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos propostos neste estudo, devidamente comprovados, poderão ser solicitadas as medidas legalmente estabelecidas.

13 – Os pesquisadores comprometem-se a utilizar os dados e o material coletado nesta pesquisa somente para os fins aqui estabelecidos.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **"DETECÇÃO DA DISFUNÇÃO CARDÍACA PELO ESTUDO DA HEMODINÂMICA FETAL NA HIPOXIA"** Eu discuti com os pesquisadores da equipe sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concorro voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____/____/____

Assinatura da testemunha Data ____/____/____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____/____/____

9 Referências

1. Foidart JM, Seak-San S, Emonts P, Schaaps JP. Vascular placental pathology in high-risk groups: definition and synopsis. *Ann Med Interne (Paris)*. 2003;154(5-6):332-9.
2. Baschat AA, Gembruch U, Reiss I, Gortner L, Weiner CP, Harman CR. Relationship between arterial and venous Doppler and perinatal outcome in fetal growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2000;16(5):407-13.
3. Bilardo CM, Wolf H, Stigter RH, Ville Y, Baez E, Visser GH, et al. Relationship between monitoring parameters and perinatal outcome in severe, early intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2004;23(2):119-25.
4. Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr*. 1967;71(2):159-63.
5. Marsál K. Obstetric management of intrauterine growth restriction. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2009;23(6):857-70.
6. Baschat AA, Gembruch U, Harman CR. The sequence of changes in Doppler and biophysical parameters as severe fetal growth restriction worsens. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2001;18(6):571-7.
7. Mari G, Hanif F, Kruger M, Cosmi E, Santolaya-Forgas J, Treadwell MC. Middle cerebral artery peak systolic velocity: a new Doppler parameter in the assessment of growth-restricted fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007;29(3):310-6.
8. Baschat AA, Hecher K. Fetal growth restriction due to placental disease. *Semin Perinatol*. 2004;28(1):67-80.
9. Hernandez-Andrade E, Crispi F, Benavides-Serralde JA, Plasencia W, Diesel HF, Eixarch E, et al. Contribution of the myocardial performance index and aortic isthmus blood flow index to predicting mortality in preterm growth-restricted fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2009;34(4):430-6.
10. Crispi F, Hernandez-Andrade E, Pelsers MM, Plasencia W, Benavides-Serralde JA, Eixarch E, et al. Cardiac dysfunction and cell damage across clinical stages of severity in growth-restricted fetuses. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;199(3):254.e1-8.
11. Figueras F, Puerto B, Martinez JM, Cararach V, Vanrell JA. Cardiac function monitoring of fetuses with growth restriction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2003;110(2):159-63.
12. Kiserud T, Ebbing C, Kessler J, Rasmussen S. Fetal cardiac output, distribution to the placenta and impact of placental compromise. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2006;28(2):126-36.
13. Mäkitallio K, Vuolteenaho O, Jouppila P, Räsänen J. Ultrasonographic and biochemical markers of human fetal cardiac dysfunction in placental insufficiency. *Circulation*. 2002;105(17):2058-63.
14. Girsén A, Ala-Kopsala M, Mäkitallio K, Vuolteenaho O, Räsänen J. Cardiovascular hemodynamics and umbilical artery N-terminal peptide of proB-type natriuretic peptide in human fetuses with growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007;29(3):296-303.
15. Crispi F, Comas M, Hernández-Andrade E, Eixarch E, Gómez O, Figueras F, et al. Does pre-eclampsia influence fetal cardiovascular function in early-onset intrauterine growth restriction? *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2009;34(6):660-5.

16. Bahlmann F, Krummenauer F, Spahn S, Gallinat R, Kampmann C. Natriuretic peptide levels in intrauterine growth-restricted fetuses with absent and reversed end-diastolic flow of the umbilical artery in relation to ductus venosus flow velocities. *J Perinat Med*. 2011;39(5):529-37.
17. Cameron VA, Ellmers LJ. Minireview: natriuretic peptides during development of the fetal heart and circulation. *Endocrinology*. 2003;144(6):2191-4.
18. de Lemos JA, Morrow DA, Bentley JH, Omland T, Sabatine MS, McCabe CH, et al. The prognostic value of B-type natriuretic peptide in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2001;345(14):1014-21.
19. Sagnella GA. Measurement and significance of circulating natriuretic peptides in cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond)*. 1998;95(5):519-29.
20. McDonagh TA, Morrison CE, Lawrence A, Ford I, Tunstall-Pedoe H, McMurray JJ, et al. Symptomatic and asymptomatic left-ventricular systolic dysfunction in an urban population. *Lancet*. 1997;350(9081):829-33.
21. Troughton RW, Frampton CM, Yandle TG, Espiner EA, Nicholls MG, Richards AM. Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations. *Lancet*. 2000;355(9210):1126-30.
22. Daly C, Fox K, Henein M. Natriuretic peptides in the diagnosis of heart disease--first amongst equals? *Int J Cardiol*. 2002;84(2-3):107-13.
23. Omland T, Persson A, Ng L, O'Brien R, Karlsson T, Herlitz J, et al. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and long-term mortality in acute coronary syndromes. *Circulation*. 2002;106(23):2913-8.
24. Mannarino S, Garofoli F, Cerbo RM, Perotti G, Mongini E, Codazzi C, et al. Cord blood, perinatal BNP values in term and preterm newborns. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2010;95(1):F74.
25. Merz WM, Kübler K, Albers E, Stoffel-Wagner B, Gembruch U. Reference values for N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in fetal circulation between 20 and 34 weeks of gestation. *Clin Biochem*. 2010;43(4-5):519-21.
26. Schwachtgen L, Herrmann M, Georg T, Schwarz P, Marx N, Lindinger A. Reference values of NT-proBNP serum concentrations in the umbilical cord blood and in healthy neonates and children. *Z Kardiol*. 2005;94(6):399-404.
27. Barra JS. Avaliação dos níveis de peptídeos natriuréticos: ANP, BNP e da síntese do óxido nítrico em fetos com diagnóstico ultra-sonográfico de crescimento intra-uterino-restrito (CIUR). (Dissertação). Universidade Federal de Minas Gerais, 2003.
28. Barker DJ, Osmond C, Law CM. The intrauterine and early postnatal origins of cardiovascular disease and chronic bronchitis. *J Epidemiol Community Health*. 1989;43(3):237-40.
29. Tyson RW, Staat BC. The intrauterine growth-restricted fetus and placenta evaluation. *Semin Perinatol*. 2008;32(3):166-71.
30. Mari G, Hanif F, Drennan K, Kruger M. Staging of intrauterine growth-restricted fetuses. *J Ultrasound Med*. 2007;26(11):1469-77.
31. Giles WB, Trudinger BJ, Baird PJ. Fetal umbilical artery flow velocity waveforms and placental resistance: pathological correlation. *Br J Obstet Gynaecol*. 1985;92(1):31-8.
32. Morrow RJ, Adamson SL, Bull SB, Ritchie JW. Effect of placental embolization on the umbilical arterial velocity waveform in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 1989;161(4):1055-60.
33. Rigano S, Bozzo M, Ferrazzi E, Bellotti M, Battaglia FC, Galan HL. Early and persistent reduction in umbilical vein blood flow in the growth-restricted fetus: a longitudinal study. *Am J Obstet Gynecol*. 2001;185(4):834-8.

34. Arduini D, Rizzo G, Romanini C. Changes of pulsatility index from fetal vessels preceding the onset of late decelerations in growth-retarded fetuses. *Obstet Gynecol.* 1992;79(4):605-10.
35. Hecher K, Bilardo CM, Stigter RH, Ville Y, Hackelöer BJ, Kok HJ, et al. Monitoring of fetuses with intrauterine growth restriction: a longitudinal study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001;18(6):564-70.
36. Ferrazzi E, Bozzo M, Rigano S, Bellotti M, Morabito A, Pardi G, et al. Temporal sequence of abnormal Doppler changes in the peripheral and central circulatory systems of the severely growth-restricted fetus. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2002;19(2):140-6.
37. Cosmi E, Ambrosini G, D'Antona D, Saccardi C, Mari G. Doppler, cardiotocography, and biophysical profile changes in growth-restricted fetuses. *Obstet Gynecol.* 2005;106(6):1240-5.
38. Chalubinski KM, Repa A, Stammeler-Safar M, Ott J. Impact of Doppler sonography on intrauterine management and neonatal outcome in preterm fetuses with intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012;39(3):293-8.
39. Edelstone DI, Rudolph AM, Heymann MA. Liver and ductus venosus blood flows in fetal lambs in utero. *Circ Res.* 1978;42(3):426-33.
40. Turan S, Turan OM, Berg C, Moyano D, Bhide A, Bower S, et al. Computerized fetal heart rate analysis, Doppler ultrasound and biophysical profile score in the prediction of acid-base status of growth-restricted fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;30(5):750-6.
41. Jensen A, Garnier Y, Berger R. Dynamics of fetal circulatory responses to hypoxia and asphyxia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1999;84(2):155-72.
42. Peeters LL, Sheldon RE, Jones MD Jr, Makowski EL, Meschia G. Blood flow to fetal organs as a function of arterial oxygen content. *Am J Obstet Gynecol.* 1979;135(5):637-46.
43. Arbeille P, Patat F, Tranquart F, Body G, Berson M, Roncin A, et al. Doppler examination of the umbilical and cerebral arterial circulation of the fetus. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris).* 1987;16(1):45-51.
44. Hecher K, Campbell S, Doyle P, Harrington K, Nicolaides K. Assessment of fetal compromise by Doppler ultrasound investigation of the fetal circulation. Arterial, intracardiac, and venous blood flow velocity studies. *Circulation.* 1995;91(1):129-38.
45. Rasanen J, Debbs RH, Huhta JC. Echocardiography in intrauterine growth restriction. *Clin Obstet Gynecol.* 1997;40(4):796-803.
46. Mäkitallio K, Vuolteenaho O, Jouppila P, Räsänen J. Association of severe placental insufficiency and systemic venous pressure rise in the fetus with increased neonatal cardiac troponin T levels. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(3):726-31.
47. Nomura RM, Cabar FR, Costa VN, Miyadahira S, Zugaib M. Cardiac troponin T as a biochemical marker of cardiac dysfunction and ductus venosus Doppler velocimetry. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009;147(1):33-6.
48. Clark SJ, Newland P, Yoxall CW, Subhedar NV. Cardiac troponin T in cord blood. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2001;84(1):F34-7.
49. Chaiworapongsa T, Espinoza J, Yoshimatsu J, Kalache K, Edwin S, Blackwell S, et al. Subclinical myocardial injury in small-for-gestational-age neonates. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002;11(6):385-90.
50. Ruskoaho H. Cardiac hormones as diagnostic tools in heart failure. *Endocr Rev.* 2003;24(3):341-56.
51. Maisel A, Mehra MR. Understanding B-type natriuretic peptide and its role in diagnosing and monitoring congestive heart failure. *Clin Cornerstone.* 2005;7 Suppl 1:S7-17.
52. Yandle TG. Biochemistry of natriuretic peptides. *J Intern Med.* 1994;235(6):561-76.

53. Hobbs FD, Davis RC, Roalfe AK, Hare R, Davies MK, Kenkre JE. Reliability of N-terminal pro-brain natriuretic peptide assay in diagnosis of heart failure: cohort study in representative and high risk community populations. *BMJ*. 2002;324(7352):1498.
54. Nakamura T, Sakamoto K, Yamano T, Kikkawa M, Zen K, Hikosaka T, et al. Increased plasma brain natriuretic peptide level as a guide for silent myocardial ischemia in patients with non-obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(10):1657-63.
55. Walther T, Schultheiss HP, Tschöpe C, Stepan H. Natriuretic peptide system in fetal heart and circulation. *J Hypertens*. 2002;20(5):785-91.
56. de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci*. 1981;28(1):89-94.
57. Kangawa K, Matsuo H. Purification and complete amino acid sequence of alpha-human atrial natriuretic polypeptide (alpha-hANP). *Biochem Biophys Res Commun*. 1984;118(1):131-9.
58. Schweitz H, Vigne P, Moinier D, Frelin C, Lazdunski M. A new member of the natriuretic peptide family is present in the venom of the green mamba (*Dendroaspis angusticeps*). *J Biol Chem*. 1992;267(20):13928-32.
59. Munagala VK, Burnett JC Jr, Redfield MM. The natriuretic peptides in cardiovascular medicine. *Curr Probl Cardiol*. 2004;29(12):707-69.
60. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature*. 1988;332(6159):78-81.
61. Hosoda K, Nakao K, Mukoyama M, Saito Y, Jougasaki M, Shirakami G, et al. Expression of brain natriuretic peptide gene in human heart. Production in the ventricle. *Hypertension*. 1991;17(6 Pt 2):1152-5.
62. Kinnunen P, Vuolteenaho O, Ruskoaho H. Mechanisms of atrial and brain natriuretic peptide release from rat ventricular myocardium: effect of stretching. *Endocrinology*. 1993;132(5):1961-70.
63. Chen HH, Burnett JC Jr. C-type natriuretic peptide: the endothelial component of the natriuretic peptide system. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998;32 Suppl 3:S22-8.
64. Kalra PR, Anker SD, Struthers AD, Coats AJ. The role of C-type natriuretic peptide in cardiovascular medicine. *Eur Heart J*. 2001;22(12):997-1007.
65. Wei CM, Heublein DM, Perrella MA, Lerman A, Rodeheffer RJ, McGregor CG, et al. Natriuretic peptide system in human heart failure. *Circulation*. 1993;88(3):1004-9.
66. Schirger JA, Heublein DM, Chen HH, Lisy O, Jougasaki M, Wennberg PW, Burnett JC Jr. Presence of *Dendroaspis* natriuretic peptide-like immunoreactivity in human plasma and its increase during human heart failure. *Mayo Clin Proc*. 1999;74(2):126-30.
67. Drewett JG, Garbers DL. The family of guanylyl cyclase receptors and their ligands. *Endocr Rev*. 1994;15(2):135-62.
68. McCullough PA, Sandberg KR. Sorting out the evidence on natriuretic peptides. *Rev Cardiovasc Med*. 2003;4 Suppl 4:S13-9.
69. Abassi Z, Karram T, Ellaham S, Winaver J, Hoffman A. Implications of the natriuretic peptide system in the pathogenesis of heart failure: diagnostic and therapeutic importance. *Pharmacol Ther*. 2004;102(3):223-41.
70. Hama N, Itoh H, Shirakami G, Nakagawa O, Suga S, Ogawa Y, et al. Rapid ventricular induction of brain natriuretic peptide gene expression in experimental acute myocardial infarction. *Circulation*. 1995;92(6):1558-64.

- 71.Goetze JP, Gore A, Møller CH, Steinbrüchel DA, Rehfeld JF, Nielsen LB. Acute myocardial hypoxia increases BNP gene expression. *FASEB J*. 2004;18(15):1928-30.
- 72.Haaf P, Reichlin T, Corson N, Twerenbold R, Reiter M, Steuer S, et al. B-type natriuretic peptide in the early diagnosis and risk stratification of acute chest pain. *Am J Med*. 2011;124(5):444-52.
- 73.Woods RL. Cardioprotective functions of atrial natriuretic peptide and B-type natriuretic peptide: a brief review. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2004;31(11):791-4.
- 74.Walther T, Stepan H, Faber R. Dual natriuretic peptide response to volume load in the fetal circulation. *Cardiovasc Res*. 2001 Mar;49(4):817-9.
- 75.Mannarino S, Ciardelli L, Garofoli F, Perotti G, Mongini E, Damiano S, et al. Correlation between cord blood, perinatal BNP values and echocardiographic parameters in healthy Italian newborns. *Early Hum Dev*. 2009;85(1):13-7.
- 76.Kanbe T, Maeno Y, Fujino H, Kanda H, Hirose A, Okada J, et al. Brain-type natriuretic peptide at birth reflects foetal maturation and antenatal stress. *Acta Paediatr*. 2009;98(9):1421-5.
- 77.Arad I, Bar-Oz B, Ergaz Z, Nir A, Barak V. Interleukin-6 and N-terminal pro-brain natriuretic peptide cord blood levels in premature infants: correlations with perinatal variables. *Isr Med Assoc J*. 2010;12(7):419-23.
- 78.Benavides-Serralde A, Scheier M, Cruz-Martinez R, Crispi F, Figueras F, Gratacos E, et al. Changes in central and peripheral circulation in intrauterine growth-restricted fetuses at different stages of umbilical artery flow deterioration: new fetal cardiac and brain parameters. *Gynecol Obstet Invest*. 2011;71(4):274-80.
- 79.Price JF, Thomas AK, Grenier M, Eidem BW, O'Brian Smith E, Denfield SW, et al. B-type natriuretic peptide predicts adverse cardiovascular events in pediatric outpatients with chronic left ventricular systolic dysfunction. *Circulation*. 2006 Sep 5;114(10):1063-9..
- 80.Arduini D, Rizzo G. Normal values of Pulsatility Index from fetal vessels: a cross-sectional study on 1556 healthy fetuses. *J Perinat Med*. 1990;18(3):165-72.
- 81.i-STAT BNP Cartridge. Abbott Laboratórios do Brasil LTDA. Divisão de diagnósticos. N° de registro ANVISA: 80146501545. Data da edição:04/09/2008.
82. Shah K, Terracciano GJ, Jiang K, Maisel AS, Fitzgerald RL. Comparability of Results between Point-of-Care and Automated Instruments to Measure B-type Natriuretic Peptide. *West J Emerg Med*. 2010;11(1):44-8.
- 83.Baschat AA, Gembruch U. The cerebroplacental Doppler ratio revisited. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003;21(2):124-7.
- 84.Baschat AA. Relationship between placental blood flow resistance and precordial venous Doppler indices. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003; 22(6): 561-6.
- 85.Karsdorp VH, van Vugt JM, van Geijn HP, Kostense PJ, Arduini D, Montenegro N, et al. Clinical significance of absent or reversed end diastolic velocity waveforms in umbilical artery. *Lancet*. 1994;344(8938):1664-8.
- 86.Francisco RP, Miyadahira S, Zugaib M. Predicting pH at birth in absent or reversed end-diastolic velocity in the umbilical arteries. *Obstet Gynecol*. 2006;107(5):1042-8.
- 87.Maeda Mde F, Nomura RM, Niigaki JI, Miyadahira S, Zugaib M. Relação cerebroplacentária e acidemia ao nascimento em gestações com insuficiência placentária detectada antes da 34ª semana de gestação. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2010 Oct;32(10):510-5.
- 88.Morris RK, Selman TJ, Verma M, Robson SC, Kleijnen J, Khan KS. Systematic review and meta-analysis of the test accuracy of ductus venosus Doppler to predict compromise of fetal/neonatal wellbeing in high risk pregnancies with placental insufficiency. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2010;152(1):3-12.

89. Morris RK, Malin G, Robson SC, Kleijnen J, Zamora J, Khan KS. Fetal umbilical artery Doppler to predict compromise of fetal/neonatal wellbeing in a high-risk population: systematic review and bivariate meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011;37(2):135-42.
90. Ortigosa C, Nomura RM, Costa VN, Miyadahira S, Zugaib M. Fetal venous Doppler in pregnancies with placental dysfunction and correlation with pH at birth. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012;25(12):2620-4.
91. Trudinger BJ, Giles WB, Cook CM, Bombardieri J, Collins L. Fetal umbilical artery flow velocity waveforms and placental resistance: clinical significance. *Br J Obstet Gynaecol.* 1985 Jan;92(1):23-30.
92. Brodzski J, Hernandez-Andrade E, Gudmundsson S, Dubiel M, Mandruzzato GP, Laurini R, et al. Can the degree of retrograde diastolic flow in abnormal umbilical artery flow velocity waveforms predict pregnancy outcome? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2002;19(3):229-34.
93. Crispi F, Gratacós E. Fetal cardiac function: technical considerations and potential research and clinical applications. *Fetal Diagn Ther.* 2012;32(1-2):47-64.
94. Larsen LU, Sloth E, Petersen OB, Pedersen TF, Sorensen K, Uldbjerg N. Systolic myocardial velocity alterations in the growth-restricted fetus with cerebroplacental redistribution. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;34(1):62-7.
95. Comas M, Crispi F, Cruz-Martinez R, Martinez JM, Figueras F, Gratacós E. Usefulness of myocardial tissue Doppler vs conventional echocardiography in the evaluation of cardiac dysfunction in early-onset intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;203(1):45.e1-7.
96. Naujorks AA, Zielinsky P, Beltrame PA, Castagna RC, Petracco R, Busato A, et al. Myocardial tissue Doppler assessment of diastolic function in the growth-restricted fetus. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;34(1):68-73.
97. Garcia GS, Mariani Neto C, Araujo Júnior E, Garcia RL, Nardoza LM, Moron AF. Fetal acidemia prediction through short-term variation assessed by antepartum computerized cardiotocography in pregnant women with hypertension syndrome. *Arch Gynecol Obstet.* 2008;278(2):125-8.
98. Miyadahira S, Yamamoto RM, Francisco RPV, Steinman DS, Zugaib M. Avaliação da vitalidade fetal em 143 casos de diástole zero ou diástole reversa na dopplervelocimetria da artéria umbilical. *Rev Bras Ginec Obstet.* 1997;19:51.
99. Yamamoto RM, Francisco RPV, Miyadahira S, Chuba CC, Zugaib M. Fatores prognósticos para o óbito perinatal em gestações com diástole zero ou reversa na dopplervelocimetria das artérias umbilicais. *Rev Bras Ginec Obstet.* 2000;22(6):353-63.
100. Moriichi A, Cho K, Mizushima M, Furuse Y, Akimoto T, Yamada T, et al. B-type natriuretic peptide levels at birth predict cardiac dysfunction in neonates. *Pediatr Int.* 2012;54(1):89-93.
101. Altin H, Karaarslan S, Karataş Z, Alp H, Şap F, Baysal T. Evaluation of cardiac functions in term small for gestational age newborns with mild growth retardation: a serial conventional and tissue Doppler imaging echocardiographic study. *Early Hum Dev.* 2012;88(9):757-64.
102. Skilton MR, Evans N, Griffiths KA, Harmer JA, Celermajor DS. Aortic wall thickness in newborns with intrauterine growth restriction. *Lancet.* 2005;365(9469):1484-6.
103. Kaijser M, Bonamy AK, Akre O, Cnattingius S, Granath F, Norman M, et al. Perinatal risk factors for ischemic heart disease: disentangling the roles of birth weight and preterm birth. *Circulation.* 2008;117(3):405-10.
104. Crispi F, Bijnsens B, Figueras F, Bartrons J, Eixarch E, Le Noble F, et al. Fetal growth restriction results in remodeled and less efficient hearts in children. *Circulation.* 2010;121(22):2427-36.

105. Trevisanuto D, Avezù F, Cavallin F, Doglioni N, Marzolo M, Verlato F, et al. Arterial wall thickness and blood pressure in children who were born small for gestational age: correlation with umbilical cord high-sensitivity C-reactive protein. *Arch Dis Child*. 2010;95(1):31-4.
106. Crispi F, Figueras F, Cruz-Lemini M, Bartrons J, Bijns B, Gratacos E. Cardiovascular programming in children born small for gestational age and relationship with prenatal signs of severity. *Am J Obstet Gynecol*. 2012;207(2):121.e1-9.