

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

INSCRIÇÃO Nº 110
F. Silva

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas
Área de Bioquímica Clínica

**Proteínas de fase aguda (proteína C reativa e amilóide sérica A) e
citocinas (fator de necrose tumoral alfa, interleucina 1 beta e
interleucina 8) no cordão umbilical e soro materno no momento
do parto e puerpério**

Luciane Marzzullo Cicarelli

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Profa. Dra. Ana Campa

São Paulo
2003

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas
Área de Bioquímica Clínica

**Proteínas de fase aguda (proteína C reativa e amilóide sérica A) e
citocinas (fator de necrose tumoral alfa, interleucina 1 beta e
interleucina 8) no cordão umbilical e soro materno no momento
do parto e puerpério**

Luciane Marzzullo Cicarelli

**Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE**

**Orientadora:
Profa. Dra. Ana Campa**

**São Paulo
2003**

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Cicarelli, Luciane Marzzullo
C568p Proteínas de fase aguda (proteína C reativa e amilóide sérica A) e citocinas (fator de necrose tumoral alfa, interleucina 1 beta e interleucina 8) no cordão umbilical e soro materno no momento do parto e puerpério / Luciane Marzzullo Cicarelli. -- São Paulo, 2003.
72p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.

Orientador: Campa, Ana

1. Imunologia 2. Gravidez : Aspectos imunológicos : Fisiologia humana I. T. II. Campa, Ana, orientador.

615.37 CDD

DEDALUS - Acervo - CQ



30100005341

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

Luciane Marzzullo Cicarelli

**Proteínas de fase aguda (proteína C reativa e amilóide sérica A) e
citocinas (fator de necrose tumoral alfa, interleucina 1 beta e
interleucina 8) no cordão umbilical e soro materno no momento
do parto e puerpério**

**Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Mestre**

**Profa. Dra. Ana Campa
orientadora / presidente**

1º. examinador

2º. examinador

São Paulo, 19 de março de 2003.

Pois criaste o meu interior; entreteceste-me
no ventre de minha mãe.

Eu te louvo, ó Deus, porque de um modo
terrível e maravilhoso fui formada,
maravilhosas são as Tuas obras, e a minha
alma o sabe muito bem.

(Salmo 139:13 e 14)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, por oferecerem condições desde minha infância para que eu chegasse até aqui.

Ao meu amado Domingos Dias Cicarelli, cuja companhia e amor são imprescindíveis para minha existência.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Adriana Guimarães Perroni, cujo carinho e atenção foram essenciais para a realização deste empreendimento.

A todas as mães que aceitaram participar, dedicando alguns minutos de seu descanso para que pudéssemos obter algumas amostras.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Ana Campa, responsável, desde cedo durante a minha graduação, pela formação de um pensar crítico e criativo que muito me ajudou durante a realização deste sonho.

Ao Departamento de Obstetrícia e Ginecologia do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, na pessoa do Prof. Dr. Paulo Basto de Albuquerque, pela colaboração na obtenção de amostras para esse trabalho.

À equipe de Enfermagem do Departamento de Obstetrícia e Ginecologia do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, obrigada pela atenção e colaboração.

Aos amigos do Serviço de Laboratório Clínico do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, pela importante ajuda na recepção, separação e armazenamento das amostras, minha eterna gratidão.

À Prof^a. Lúcia Pereira Barroso, Prof. Rinaldo Artes, Profa. Elisete C. Q. Aubin, aluna Daniela Soares Costa, pela aprovação para análise estatística do projeto no Centro de Estatística Aplicada do Instituto de Matemática e Estatística da Universidade de São Paulo.

À Regina Helena Russo, pelo tratamento estatístico dos resultados obtidos que muito ajudaram na compreensão da ciência Estatística, muito obrigada.

À Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Lebrão, superintendente do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, pelo apoio e oportunidade institucional fundamentais.

Ao Prof. Dr. Carlos Adalberto de Camargo Sannazzaro, diretor do Serviço de Laboratório Clínico do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, pelo apoio técnico fundamental.

Aos assistentes do Departamento de Obstetrícia e Ginecologia do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, Dr^a. Maria Aparecida Chiea, Dr^a. Ana Lúcia Gaudenci Alves, Dr. Carlos Alberto Maganha, bem como todos aqueles que ajudaram na realização deste trabalho.

Aos amigos Valdir de A. Santos, Valéria, Vanda, Juliana, Luciana Basso, Lilian, Silvinha, Lígia, Carolina, Marlene, Sílvia Cardoso, Marisa, Lucilene, Célia, Cláudia, Cristiane Furlaneto, Sueli, Maria Rita, Cristiani, Fernanda, Elaine, Sabrina, Patrícia, Leila Borracha, Ana Claudia H. Pinto que muito incentivaram e colaboraram para a realização desta etapa de minha vida.

Aos grandes mestres, Prof^a. Dr^a. Regina Ayr Florio da Cunha (Reca), Prof^a. Dr^a. Adelaide Jose Vaz, Prof^a. Dr^a. Primavera Borelli Garcia, Prof^a. Dr^a. Lígia Ferreira Gomes, Prof. Dr. Antonio Altair Magalhães Oliveira (Tata) e Prof^a. Dr^a. Lúcia Helena Melloni-Bruneri (saudades), exemplos de vida que muito me inspiram.

Àqueles que não foram citados nominalmente que, conhecendo ou não sua participação, contribuíram para esse trabalho.

SUMÁRIO

Dedicatória	
Agradecimento especial	
Agradecimentos	
Sumário	
Lista de figuras	
Lista de tabelas	
Lista de abreviaturas e siglas	
Resumo	
Abstract	
1. INTRODUÇÃO	01
2. PROCESSOS FISIOLÓGICOS DO PARTO	05
2.1. FASES DO PARTO	06
2.1.1. FASE 0: GESTAÇÃO E PRELÚDIO DO PARTO.....	07
2.1.2. FASE 1: PREPARAÇÃO PARA O TRABALHO DE PARTO.....	07
2.1.3. FASE 2: PROCESSO DO TRABALHO DE PARTO.....	08
2.1.3.1. ESTÁGIO DE ESVAECIMENTO E DILATAÇÃO.....	08
2.1.3.2. ESTÁGIO DE EXPULSÃO DO FETO.....	09
2.1.3.3. ESTÁGIO DE SEPARAÇÃO E EXPULSÃO DA PLACENTA.....	09
2.1.4. FASE 3: RECUPERAÇÃO DA PUÉRPERA.....	09
3. PROCESSO INFLAMATÓRIO E PARTO	11
3.1. PROTEÍNAS DE FASE AGUDA E PARTO	13
3.1.1. PROTEÍNA C REATIVA (PCR).....	14
3.1.2. AMILÓIDE SÉRICA A (SAA).....	15
3.2. CITOCINAS E PARTO	17
3.2.1. FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA (TNF- α).....	18
3.2.2. INTERLEUCINA 1 BETA (IL-1 β).....	19
3.2.3. INTERLEUCINA 8 (IL-8).....	20
3.3. NEUTRÓFILOS POLIMORFONUCLEARES E PARTO	21

4. PARTO POR CESÁREA.....	23
5. OBJETIVOS.....	24
6. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	25
7. RESULTADOS.....	27
8. DISCUSSÃO.....	39
9. CONCLUSÕES.....	46
10.REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	47
ANEXO I.....	55
ANEXO II.....	56
APÊNDICE DE TABELAS.....	57
APÊNDICE DE FIGURAS.....	63

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Divisão arbitrária do parto em quatro fases: gestação, início do parto, trabalho de parto e recuperação da puérpera (adaptado de CUNNINGHAM et al., 2001).

FIGURA 2: Formação de bolsa a partir do saco amniótico, durante a dilatação cervical, com exposição de fragmentos de membranas ao fluido vaginal, favorecendo a resposta inflamatória local (adaptado de CUNNINGHAM et al., 2001).

FIGURA 3: Valores médios para PCR (mg/dL) em amostras de soro materno obtidas durante os períodos de coleta (MI = momento de internação, MP = momento do parto, 24H = 24 horas após o parto e 60H = 60 horas após o parto), para os grupos de PN (n = 12) e PC (n = 12).

FIGURA 4: Valores médios para SAA ($\mu\text{g/mL}$) em amostras de soro materno obtidas durante os períodos de coleta (MI = momento de internação, MP = momento do parto, 24H = 24 horas após o parto e 60H = 60 horas após o parto), para os grupos de PN (n = 12) e PC (n = 12).

FIGURA 5: Valores médios comparando PCR e SAA (nas concentrações em mg/L) em amostras de soro materno obtidas durante os períodos de coleta (MI = momento de internação, MP = momento do parto, 24H = 24 horas após o parto e 60H = 60 horas após o parto), para os grupos de PN (n = 12) e PC (n = 12).

FIGURA 6: Valores médios para TNF- α (pg/mL) em amostras de soro materno obtidas durante os períodos de coleta (MI = momento de

internação, MP = momento do parto, 24H = 24 horas após o parto e 60H = 60 horas após o parto), para os grupos de PN (n = 12) e PC (n = 12).

FIGURA 7: Valores médios para IL-1 β (pg/mL) em amostras de soro materno obtidas durante os períodos de coleta (MI = momento de internação, MP = momento do parto, 24H = 24 horas após o parto e 60H = horas após o parto), para os grupos de PN (n = 12) e PC (n = 12).

FIGURA 8: Valores médios para IL-8 (pg/mL) em amostras de soro materno obtidas durante os períodos de coleta (MI = momento de internação, MP = momento do parto, 24H = 24 horas após o parto e 60H = horas após o parto), para os grupos de PN (n = 12) e PC (n = 12).

FIGURA 9: Valores de PCR (mg/dL) e SAA (μ g/mL) em amostras de soro materno e soro de cordão umbilical (RN = recém-nascido) para os grupos de PN (n = 12) e PC (n = 12).

FIGURA 10: Valores de TNF- α , IL-1 β e IL-8 (pg/mL) em amostras de soro materno e soro de cordão umbilical (RN = recém-nascido) para os grupos de PN (n = 12) e PC (n = 12).

FIGURA 11: Valores de SAA e PCR (mg/L), TNF- α , IL-1 β e IL-8 (pg/mL) em amostras de soro materno obtidas para um caso específico diagnosticado como sofrimento fetal intraparto.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Resumo de resultados de proteínas de fase aguda e citocinas obtidos para o parto normal (PN) e parto cesárea (PC), em cada momento de coleta obtidos para mãe e recém-nascido, apresentados através de média, mediana e desvio-padrão.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μg/mL: micrograma por mililitro

24H: 24 horas após o parto

60H: 60 horas após o parto

apo A-1: apolipoproteína A-1

cm: centímetro

ELISA: enzima imunoensaio

Fc: porção Fc da molécula de anticorpo

HDL₃: terceira fração da lipoproteína de alta densidade

HLA-G: proteína não clássica do complexo maior de histocompatibilidade

IL-1β: interleucina 1 beta

IL-1: interleucina 1

IL-6: interleucina 6

IL-8: interleucina 8

mg/dL: miligrama por decilitro

mg/L: miligrama por litro

MHC I: antígeno do complexo maior de histocompatibilidade classe I

MHC II: antígeno do complexo maior de histocompatibilidade classe II

MI: momento de internação

MIP-1α: proteína inflamatória de macrófago 1 alfa

MIP-1β: proteína inflamatória de macrófago 1 beta

MP: momento do parto

PC: parto por cesárea

PCR: proteína C reativa

pg/mL: picograma por mililitro

PGE₂: prostaglandina E₂

PGF_{2α}: prostaglandina F_{2α}

PMN: neutrófilos polimorfonucleares

PN: parto normal

RNA_m: ácido ribonucléico mensageiro

RPMO: rotura prematura de membranas ovulares

SAA: amilóide sérica A

TNF- α : fator de necrose tumoral alfa

TNF: fator de necrose tumoral

RESUMO

Neste estudo foram determinadas as concentrações séricas de proteínas de fase aguda – proteína C reativa (PCR) e amilóide sérica A (SAA) – e citocinas – fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 1 beta (IL-1 β) e interleucina 8 (IL-8) – em amostras de soro de mulheres colhidas no momento da internação, momento do parto e após o parto (24 e 60 horas) e recém-nascidos (sangue do cordão umbilical) no momento do parto. Tanto PCR como SAA apresentaram comportamentos semelhantes ao longo do tempo, sendo os níveis máximos atingidos em 24 horas após o parto. Para as amostras de cordão umbilical, essas proteínas possuíram concentrações menores, quando comparadas com os níveis séricos maternos no momento do parto. As citocinas estudadas não apresentaram acentuadas alterações temporais, mantendo níveis aproximadamente constantes, bem como concentrações semelhantes entre mãe e recém-nascido no momento do parto. Este estudo ampliou observações anteriores sobre a participação de proteínas de fase aguda e citocinas na fisiologia do parto, oferecendo uma visão integrada entre resposta inflamatória e o parto.

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the concentration of acute phase proteins – C reactive protein (CRP) and serum amyloid A protein (SAA) – and cytokines – tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin 1 beta (IL-1 β) and interleukin 8 (IL-8) – in women's serum samples obtained at the moment of hospital admission, moment of delivery, 24 and 60 hours after delivery; and serum samples of newborn (blood of umbilical cord) at the moment of delivery. Both CRP and SAA had similar results through the time; the maximum levels were obtained 24 hours after delivery. In samples of umbilical cord, these proteins had low concentrations, when compared with maternal blood at the moment of delivery. Cytokines did not have significant differences during the study and the results were similar between mothers and their newborns at moment of delivery. This study extended previous observations about acute phase proteins and cytokines during and after delivery, showing an association of inflammatory response and delivery.

1. INTRODUÇÃO

Durante a gravidez, a mulher apresenta alterações bioquímicas e imunológicas que visam a manutenção do feto em seu organismo por determinado período de tempo. Essas modificações são fisiológicas e fazem parte do ciclo biológico da mulher, estando relacionadas com todas as etapas da gravidez normal, desde a sua manutenção, desenvolvimento do feto, parto e lactação. A gravidez pode ser considerada exemplo natural de reação imune que ocorre em um organismo e se opõe às regras de rejeição do não próprio. Os componentes genéticos fetais são metade proveniente da mãe e a outra metade do pai, sendo mantidos em sítio privilegiado que é o útero, não só escapando do ataque do sistema imunológico materno, como sendo mantido por esse mesmo sistema (VASSILIADIS et al., 1998). Assim a gestação corresponde a um equilíbrio do sistema imune materno, que se mantém tolerante aos antígenos fetais, porém competente para defesa contra microrganismos (WEETMAN, 1999).

Como não existe o aparecimento de imunização materna, nem o feto é rejeitado, apesar da íntima relação entre os dois durante longo período de tempo, a gravidez poderia ser considerada um enigma imunológico. As acentuadas alterações maternas poderiam ser, ou realmente são, simplesmente resposta à adaptação imunológica dos processos reprodutivos humanos. Em 1953, em trabalho clássico, Medawar sugeriu três hipóteses para explicar a ausência da reação imunológica materna: (a) imaturidade antigênica fetal; (b) incapacidade materna para resposta imunológica e (c) separação imunológica entre mãe e feto (DELASCIO & GUARIENTO, 1987a).

A separação estabelecida pela placenta, cuja organização estrutural é importante para a comunicação entre mãe e feto, além de funcionar como sítio para troca de nutrientes, também cria condições para que as hipóteses acima sejam confirmadas. As células fetais constituintes da placenta (trofoblastos) não apresentam expressão antigênica do complexo

maior de histocompatibilidade classe I (MHC I) e classe II (MHC II) durante todos os estágios da gestação, mas uma proteína MHC não clássica (HLA-G) que favorece a tolerância materna (BOWEN et al., 2002b; CUNNINGHAM et al., 2001; WEETMAN, 1999). Durante 95% do período gestacional normal, não ocorre resposta aos estímulos naturais, nem às mudanças mecânicas e químicas, que poderiam promover o esvaziamento do conteúdo uterino (CUNNINGHAM et al., 2001). Apesar do miométrio não ser quiescente em termos de atividade contrátil, durante a gravidez as contrações são isoladas a pequenas áreas do músculo, sendo de longa duração e pequena amplitude. No trabalho de parto ativo, as contrações tomam-se sincronizadas através de todo o músculo com curta duração e grande amplitude (OLSON et al., 1995). Os mecanismos bioquímicos e moleculares envolvidos nesta transição não são totalmente conhecidos.

A iniciação do parto a termo envolve fatores produzidos localmente na placenta, membranas fetais e útero, bem como sinais desconhecidos originados no feto, que atuam de forma complexa mas coordenada (KEELAN et al., 1997). As prostaglandinas funcionam como importantes estimuladores uterinos, estando relacionadas com a iniciação e manutenção do trabalho de parto, podendo ser encontradas no plasma materno, urina e líquido amniótico. São produzidas nos tecidos intra-uterinos, âmnio (PGE_2) e na decídua ($PGF_{2\alpha}$), sendo consideradas por alguns pesquisadores como consequência e não a causa do trabalho de parto. Prostaglandinas são capazes de controlar a produção de citocinas, que por sua vez são capazes de promover a síntese de prostaglandinas. Este sistema de comunicação poderia coordenar os eventos do trabalho de parto, motivando alguns pesquisadores a examinar mediadores não tradicionais como as citocinas, na busca de seu possível papel na regulação do parto normal a termo (OLSON et al., 1995). Com base nesta hipótese, buscamos estudar o comportamento sérico de citocinas pró-inflamatórias como fator de necrose tumoral alfa ($TNF-\alpha$), interleucina 1 beta ($IL-1\beta$) e interleucina 8 ($IL-8$) durante o trabalho de parto, bem como no recém-nascido no momento do parto através de sangue do cordão umbilical.

As citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β e TNF- α , têm papel importante no parto, tanto a termo como pré-termo, sendo produzidas em grandes quantidades (IL-1 β) pelas células endoteliais placentárias. TNF- α é produzido por macrófagos, aumentando após a rotura de membranas. Essas citocinas são importantes reativos de fase aguda, capazes de aumentar a biossíntese de prostaglandinas ou causar mudanças no miométrio, produzindo dilatação cervical (IL-8), levando ao parto. Alguns pesquisadores sugerem que o controle do parto seria feito de forma semelhante ao controle de transdução de sinal associado a condições de infecção. Por isso, citocinas pró-inflamatórias produzidas em resposta a invasão microbiana, poderiam estimular o parto pré-termo através das mesmas vias compartilhadas de ativação (NESIN & CUNNINGHAM-RUNDLES, 2000). Mas o próprio processo natural do parto favorece o surgimento de resposta inflamatória, quando a dilatação cervical expõe as membranas fetais aos fluidos vaginais (CUNNINGHAM et al., 2001).

Processos inflamatórios, traumas e infecções podem desencadear uma série de modificações metabólicas no organismo, que são conhecidas como resposta de fase aguda. Citocinas (IL-1 e TNF) podem atuar à semelhança de hormônios, estimulando essa resposta, aumentando a concentração de proteínas que apresentam baixas concentrações em condições normais (DINARELLO, 1996). Entre as principais proteínas de fase aguda envolvidas com o parto podemos destacar a proteína C reativa (PCR) e amilóide sérica A (SAA). Durante a gestação e pós-parto, tem sido constatado um aumento na concentração dessas proteínas, mesmo na ausência de infecção ou inflamação (de VILLIERS et al., 1990; WATTS et al., 1991). Estudos buscam a utilização destas proteínas para o diagnóstico de condições patológicas associadas com a gravidez e parto, como infecção de membranas, parto pré-termo, infecções no recém-nascido, pré-eclâmpsia. Não se tem conhecimento dos valores normais de referência para PCR e SAA após parto em condições normais, dificultando sua utilização para detecção de patologias no puerpério. Neste estudo, buscamos caracterizar o comportamento destas proteínas de fase aguda no momento do parto e

puerpério, a fim de caracterizar possíveis valores de referência em condições de parto normal e parto por cesárea a termo, sem patologias associadas. Também avaliamos a possível correlação entre as concentrações destas proteínas em amostras de sangue materno (soro) e de recém-nascidos (cordão umbilical), colhidas no momento do parto.

Alguns trabalhos do nosso grupo mostraram que SAA pode servir como um potente indutor de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β e IL-8) secretadas por neutrófilos polimorfonucleares (PMN) humanos *in vitro* (FURLANETO & CAMPA, 2000). Durante a dilatação cervical e formação do canal de parto, existe uma reorganização do tecido conectivo com aumento de ácido hialurônico associado com maior de retenção de água e diminuição de colágeno (OSMERS et al., 1995). Tem-se conhecimento da intensa mobilização de neutrófilos para a região através da atuação de IL-8, que atua recrutando essas células e ativando a liberação de colagenase (KELLY, 1996; JUNQUEIRA et al., 1980). Portanto, o processo fisiológico do parto cria condições ideais para o estudo de uma possível correlação entre citocinas e proteínas de fase aguda em situações não patológicas, bem como favorece a busca de entendimento de mecanismos ainda não esclarecidos.

2. PROCESSOS FISIOLÓGICOS DO PARTO

O parto é o processo de dar à luz. Entretanto, uma simples definição não demonstra o quanto esse processo é complicado e ainda necessita de melhor compreensão de nossa parte (OLSON et al., 1995). Os mecanismos que causam a iniciação do parto têm sido amplamente estudados, mas muito ainda precisa ser esclarecido. O parto humano é caracterizado por uma complexa rede de fatores autócrinos, parácrinos e moléculas sinalizadoras provenientes dos tecidos intra-uterinos, formando um emaranhado de mecanismos bioquímicos e moleculares (KEELAN et al., 1997).

Durante as primeiras 36 a 38 semanas de gestação, o miométrio permanece quiescente devido à atuação de vários processos independentes, mas cooperativos (CUNNINGHAM et al., 2001), entretanto apresenta atividade contrátil característica do período gestacional, com contrações isoladas de longa duração e pequena amplitude. Perto do final da gravidez, o útero começa a preparação para o trabalho de parto, onde uma fase de transição é necessária para que a atividade contrátil possa ser estabelecida através de contrações de curta duração e grande amplitude, realizadas de forma sincronizada por todo o corpo muscular (OLSON et al., 1995).

O mecanismo envolvido nesta fase de transição ainda não foi identificado, sendo que as contrações uterinas que levam a dilatação cervical, posicionamento e nascimento do feto, iniciam-se repentinamente sem nenhuma advertência (CUNNINGHAM et al., 2001). Uma vez estabelecido o trabalho de parto, o intervalo entre as contrações diminui gradualmente de 10 minutos para menos de 1 minuto, sendo necessários períodos de relaxamento entre elas, essenciais para o bem-estar do feto. Na fase ativa do trabalho de parto, a duração de cada contração varia de 30 a 90 segundos, com média em torno de 1 minuto (DESLASCIO & GUARIENTO, 1987b). Portanto, as últimas horas da gravidez humana

apresentam grande gasto de energia, sendo conhecidas como “trabalho de parto”, onde as contrações do músculo liso uterino apresentam-se dolorosas, caracterizando as chamadas “dores do parto” (CUNNINGHAM et al., 2001).

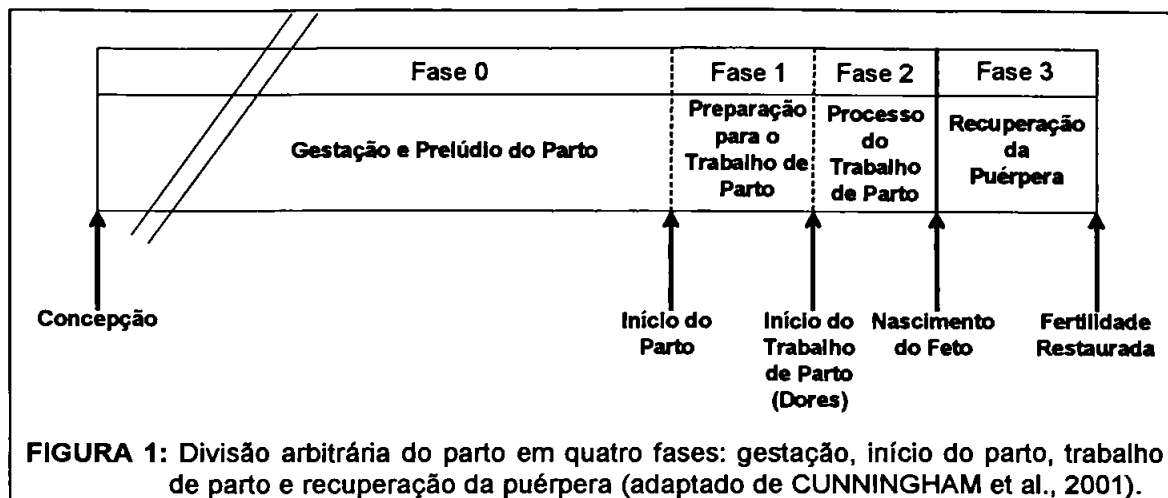
Os processos fisiológicos na gravidez humana que provocam a iniciação do parto ainda não estão bem definidos. Na maioria das espécies de mamíferos, a diminuição ou retirada de progesterona pode ocorrer antes do início do parto, o que não ocorre em humanos. Os níveis de progesterona no plasma materno aumentam durante a gestação, diminuindo apenas após a liberação da placenta. Atualmente, duas teorias tentam explicar a iniciação do parto, estando baseadas na (a) hipótese de retirada da manutenção da gravidez e (b) teoria da indução do parto por uterotonina¹. Alguns pesquisadores também especulam que a maturidade do feto, de forma ainda não definida, seria um indício para desencadear o processo do parto. Apesar desse conceito ter sido proposto por Speigelberg, em 1882, nenhum sinal fetal foi descoberto até hoje (CUNNINGHAM et al., 2001).

2.1. FASES DO PARTO: (CUNNINGHAM et al., 2001)

O parto corresponde a todas as etapas do processo fisiológico envolvidas com o nascimento do feto; incluindo o início, a preparação, o próprio parto, bem como a recuperação da paciente após o nascimento da criança. Existe uma divisão arbitrária do parto em quatro fases (FIGURA 1), que correspondem às principais transições fisiológicas do útero e do canal cervical durante a gestação.

¹ *Uterotoninas*: substâncias que provocam a contração do músculo uterino como, por exemplo, ocitocina, prostaglandinas, fator ativador de plaquetas (PAF) e endotelina-1;

Uterotropinas: são agentes responsáveis pelo “despertar do útero”, que atuam no miométrio e canal cervical preparando os tecidos uterinos para o trabalho de parto, por exemplo, receptores para ocitocina e proteínas das “gap junctions” (DIZON-TOWNSON & KENNETH, 1997).



2.1.1. FASE 0: GESTAÇÃO E PRELÚDIO DO PARTO:

Essa fase é caracterizada pela tranquilidade uterina, com manutenção da integridade estrutural do canal cervical, onde vários sistemas moleculares (endócrinos, parácrinos e autócrinos) relacionados através de múltiplo processo de sinalização, mantêm o útero quiescente. Perto do final da gravidez, o miométrio precisa ser “acordado” (ativado) desta prolongada pausa, a fim de ser preparado para o trabalho de parto.

2.1.2. FASE 1: PREPARAÇÃO PARA O TRABALHO DE PARTO:

Nesta fase, a tranquilidade uterina é suspensa, ocorrendo mudanças morfológicas e funcionais que preparam o miométrio e canal cervical para o trabalho de parto. Entre as principais modificações uterinas destacam-se: (a) aumento de receptores para ocitocina; (b) aumento das “gap junctions” (em número e área superficial) entre as células; (c) surgimento de irritabilidade uterina; (d) surgimento de resposta a uterotoninas; (e) aumento na frequência de contrações dolorosas; e (f) amolecimento ou amadurecimento cervical.

O processo de amolecimento (esvaecimento) cervical é caracterizado por intenso remodelamento do tecido conectivo, matriz extracelular (colágeno) e substância basal (glicosaminoglicano, sulfato de dermatan e ácido hialurônico). Ocorre diminuição na quantidade relativa de

sulfato de dermatan, aumento na concentração de ácido hialurônico associado com retenção de água no tecido conectivo. O amadurecimento cervical é seguido pelo processo de dilatação cervical, caracterizado pela diminuição do conteúdo de colágeno através da atuação de colagenases originárias de neutrófilos polimorfonucleares (OSMERS et al., 1995).

Prostaglandinas E_2 (PGE_2) e $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) podem modular as contrações do miométrio e as mudanças bioquímicas envolvidas com o canal cervical que resultam no trabalho de parto (KNISS & IAMS, 1998), podendo ser consideradas fatores críticos para a iniciação do trabalho de parto (BOWEN et al., 2002a). São relacionadas com modificações de colágeno e nas concentrações de glicosaminoglicanos, sendo usadas clinicamente para efetivação do amolecimento cervical, através da aplicação de supositórios intravaginais que facilitam a indução do trabalho de parto. A atuação dessas substâncias ocorre através de receptores específicos, sendo dependente de múltiplos fatores. Algumas evidências sugerem que as prostaglandinas são consequência e não causa do trabalho de parto em humanos, sendo que os principais aumentos são vistos no líquido amniótico e plasma materno, após o trabalho de parto ter sido iniciado (OLSON et al., 1995).

2.1.3. FASE 2: PROCESSO DO TRABALHO DE PARTO:

Nesta fase as contrações uterinas promovem a dilatação cervical progressiva e nascimento do feto, sendo o trabalho de parto ativo dividido em três estágios:

2.1.3.1. ESTÁGIO DE ESVAECIMENTO E DILATAÇÃO:

Durante esse período, as contrações uterinas apresentam frequência, intensidade e duração suficientes para favorecer o amadurecimento cervical, terminando quando a dilatação atinge cerca de 10cm, permitindo a passagem da cabeça do feto. Para isso, as modificações do colágeno e tecido conjuntivo são acentuadas, sendo no final deste período formado o canal do parto, constituído pelo segmento inferior do

útero, colo dilatado e vagina que formam uma só cavidade (DELASCIO & GUARIENTO, 1987b). Alguns estudos demonstram que o amolecimento cervical está associado com a presença de leucócitos, sendo que o amadurecimento pode ser estimulado por várias citocinas como IL-1, TNF- α e IL-8, bem como outros agentes quimiotáticos, como C5a (KELLY, 1996).

2.1.3.2. ESTÁGIO DE EXPULSÃO DO FETO:

Começa com a dilatação completa do canal cervical e termina com o nascimento do feto.

2.1.3.3. ESTÁGIO DE SEPARAÇÃO E EXPULSÃO DA PLACENTA:

Após o nascimento do bebê, ocorre a separação e expulsão da placenta (dequitação), devido à contração espontânea do útero. A grande diminuição da área superficial uterina favorece a separação da placenta de seu local de implantação, bem como provoca o desprendimento das membranas fetais. Ocorre a formação de um hematoma central atrás da placenta, que a empurra através da cavidade uterina para sua liberação.

2.1.4. FASE 3: RECUPERAÇÃO DA PUÉRPERA:

Este período contempla os eventos relacionados ao puerpério, que incluem recuperação materna, contribuições para sobrevivência do recém-nascido e a restauração da fertilidade na puérpera. Imediatamente após o parto, por cerca de uma hora ou mais, o miométrio permanece em contração rígida e persistente, para compressão dos vasos uterinos e prevenção de hemorragia pós-parto. A participação da ocitocina tem sido considerada importante nesta fase, pois ela promoveria o aumento de mRNA de proteínas essenciais para involução uterina, como colagenase intersticial, proteína-1 quimio-atraente de monócito e IL-8. As células epiteliais dos ductos do tecido mamário apresentam aumento no número de receptores para ocitocina, que favorecem a liberação do leite, importante para o bem estar do recém-nascido. São necessárias cerca de quatro a seis semanas

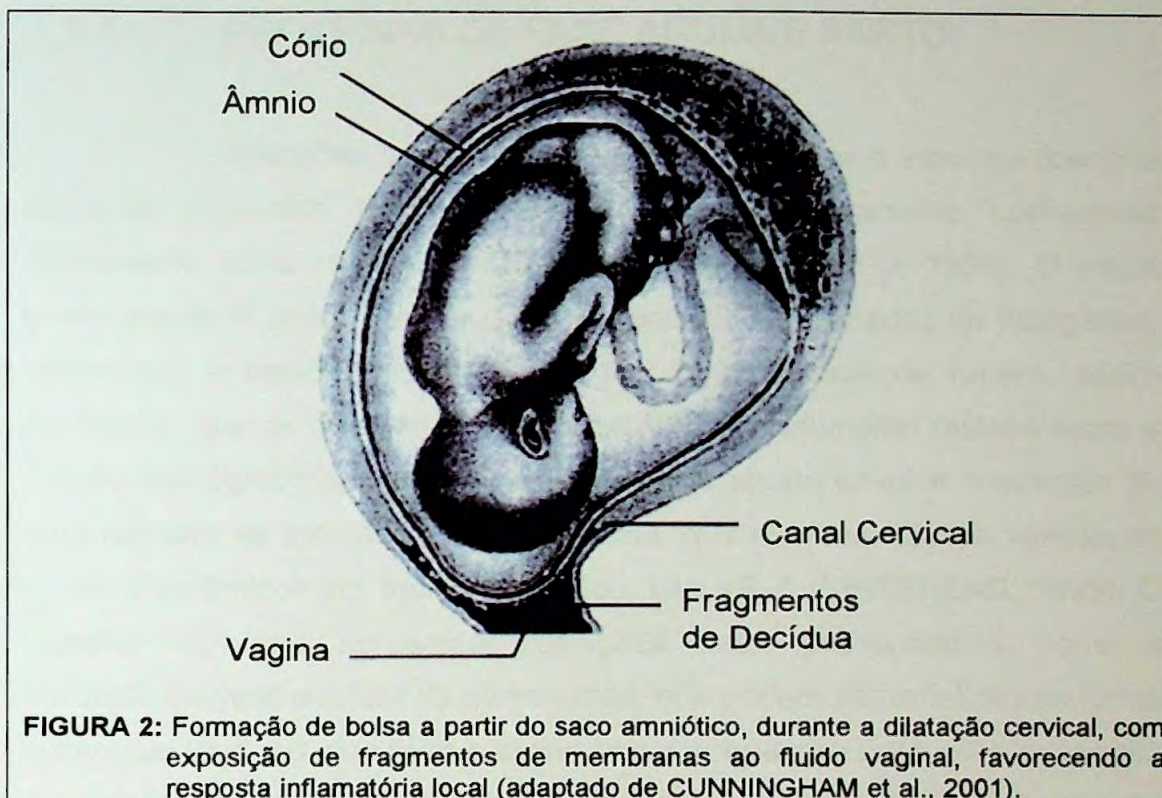
para a involução do útero e restauração da ovulação, mas este período poderá depender do tempo de amamentação.

3. PROCESSO INFLAMATÓRIO E PARTO

Alguns aspectos importantes da gravidez apresentam envolvimento de citocinas como a implantação do embrião no útero, iniciação do trabalho de parto e proteção do feto contra agentes infecciosos como vírus e parasitas (WEETMAN, 1999). A presença de mecanismos inflamatórios no parto tem sido proposta em várias ocasiões. O canal cervical pode ser amadurecido e o trabalho de parto induzido através de traumas mecânicos (rotura de membranas), prostaglandinas ou IL-8 (KELLY, 1996).

No transcorrer do trabalho de parto, ocorre a rotura espontânea das membranas que envolvem o feto. Essas membranas são formadas pelo córion e âmnio (fetais) e pela decídua (materna), conferindo proteção fisiológica, imunológica e metabólica durante a gestação. A chamada rotura prematura de membranas ovulares (RPMO) pode acontecer em qualquer estágio da gestação, antes do início do trabalho de parto (CUNNINGHAM et al., 2001). Esse trauma mecânico favorece a atuação de vários componentes do sistema imunológico no momento do parto.

Quando o trabalho de parto é iniciado, ocorrendo a dilatação e o amadurecimento cervical, há a formação de uma bolsa a partir do saco amniótico composta pelas membranas que recobrem o feto. Essa bolsa aparece na parte superior da vagina, como um balão cheio de líquido recoberto com fragmentos da decídua (FIGURA 2). O contato com o fluido vaginal, rico em microrganismos, toxinas bacterianas e citocinas (IL-1 β), favorece a resposta inflamatória nos fragmentos deciduais, que liberam diretamente na vagina quantidades variadas de mediadores inflamatórios como PGF_{2 α} , IL-1 β e interleucina 6 (IL-6) (CUNNINGHAM et al., 2001).



O processo inflamatório local, favorecido pelos mecanismos envolvidos no parto, exerce importante papel no trabalho de parto a termo e pré-termo, através da produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β e TNF- α . Essas citocinas são potentes reativos de fase aguda capazes de aumentar a síntese de prostaglandinas ou provocar alterações no miométrio produzindo a dilatação cervical (IL-8), que leva ao parto (NESIN & CUNNINGHAM-RUNDLES, 2000). Assim, fica caracterizada a participação de vários componentes da resposta inflamatória aguda durante o trabalho de parto, surgindo uma indagação de como efeitos locais seriam refletidos de forma sistêmica. Os mecanismos de defesa do organismo seriam utilizados para efetivar o trabalho de parto apresentando apenas efeitos localizados ou existiria realmente uma alteração sistêmica, refletida nas concentrações séricas maternas e fetais durante esse período.

3.1. PROTEÍNAS DE FASE AGUDA E PARTO:

Infecções, trauma, processos inflamatórios e algumas doenças malignas provocam uma série de alterações no organismo, conhecidas comumente como resposta de fase aguda (DINARELLO, 1996). O papel desta reação é isolar, neutralizar e prevenir futuras entradas de patógenos, diminuindo a lesão tecidual e promovendo processos de reparo, assim permitindo que os mecanismos homeostáticos rapidamente restabeleçam a função fisiológica normal. A resposta de fase aguda envolve a indução de uma cascata de mediadores inflamatórios, que exercem efeitos vasculares locais e sistêmicos em múltiplos órgãos (UHLAR & WHITEHEAD, 1999). O trabalho de parto apresenta alterações locais pronunciadas, como a dilatação cervical e rotura de membranas, que podem ser refletidas de forma sistêmica, uma vez que todo o organismo é preparado para esse momento. A presença de proteínas de fase aguda poderia indicar a busca por proteção durante uma situação fisiológica extrema como o processo do parto.

A resposta de fase aguda está associada com mudanças metabólicas na síntese de proteínas hepáticas, que podem ser observadas dentro de algumas horas ou dias após o início da infecção ou injúria. O fígado aumenta de cerca de 1000 vezes a síntese de proteínas, que são normalmente encontradas em baixas concentrações, como PCR e SAA (DINARELLO, 1996). Em 1990, de VILLIERS e colaboradores confirmaram a presença de uma resposta de fase aguda no momento do parto e pós-parto, caracterizando uma reação fisiológica. Neste estudo não foram verificadas possíveis correlações entre PCR e SAA, bem como correlações entre mãe e recém-nascido. Também não foram estudados outros componentes envolvidos com a iniciação da resposta de fase aguda como as citocinas inflamatórias (de VILLIERS et al., 1990), que podem ser produzidas através de estímulos como produtos bacterianos e mediadores inflamatórios (DINARELLO, 1996).

3.1.1. PROTEÍNA C REATIVA (PCR):

No homem e em outras espécies animais, a PCR é a principal proteína de fase aguda plasmática. Ela apresenta rápido e pronunciado aumento sérico em condições de infecção ou lesão tecidual. Foi descoberta na década de 30, sendo assim chamada devido à reatividade com resíduos de fosfocolina do polissacarídeo C, o ácido teicóico, do *Streptococcus pneumoniae* (VOLANAKIS, 2001). Tendo sido a primeira proteína de fase aguda descrita, apresenta grande importância clínica como marcador para doenças (DINARELLO, 1996), servindo para o acompanhamento de infecção e sua recuperação. A utilização de valores seriados de PCR tem recebido constante interesse para o diagnóstico e acompanhamento de alterações neonatais (DU CLOS & MOLD, 2001).

A principal função biológica da PCR é determinada por sua capacidade de reconhecer patógenos e células lesadas do organismo, mediando sua eliminação pela ativação da via clássica do sistema complemento e da resposta de células fagocíticas. A propriedade de opsonina da PCR tem sido demonstrada para macrófagos e neutrófilos, sendo a fagocitose mediada por receptores Fc, ou pela ligação de PCR a fragmentos opsonizantes do complemento. Esta proteína exerce importante papel na eliminação de células apoptóticas e necróticas, contribuindo para restauração da estrutura e função normal de tecidos lesados (VOLANAKIS, 2001; ISMAIL et al., 1985).

Alguns trabalhos buscam a utilização de PCR como marcador de infecções maternas subclínicas, processos inflamatórios ou como prognóstico de sepse neonatal, sendo verificadas limitações em sua utilização (DE MEEUS et al., 1998; WATTS et al., 1991; de VILLIERS, et al., 1990; ISMAIL et al., 1985; ROMEN & ARTAL, 1985). A fim de ser possível relacionar valores de PCR com processos patológicos na gestação, valores normais de referências precisam ser melhor estabelecidos, pois um aumento de PCR durante a gravidez, bem como no pós-parto são conhecidos.

As causas para o aumento de PCR durante a gestação não estão totalmente estabelecidas, podendo ser relacionadas com o aumento

de prostaglandinas e estrógenos, bem como envelhecimento placentário (DE MEEUS et al., 1998; de VILLIERS et al., 1990). Os níveis de PCR podem ser correlacionados com a idade gestacional (ROMEN & ARTAL, 1985), sendo os valores obtidos em mulheres grávidas maiores que em mulheres não grávidas (WATTS et al., 1991). O trabalho de parto na ausência de infecção clínica ou inflamação, com comprovação histológica, poderia contribuir para o aumento de PCR, através das contrações uterinas isoladas (WATTS et al., 1991). O parto (normal ou por cesárea) tem sido associado com significativa produção de PCR, sendo verificado um pico de elevação em 24 horas após o parto em gestações normais, com concentrações significativamente maiores que os valores obtidos imediatamente após o parto (de VILLIERS, et al., 1990; ROMEN & ARTAL, 1985).

Mudanças imunológicas específicas durante a gestação poderiam interferir na síntese de PCR, especialmente aquelas relacionadas com as citocinas (DE MEEUS et al. 1998), uma vez que IL-1, TNF e IL-6 podem induzir a expressão de PCR (BAUMANN & GAUDIE, 1994). Várias publicações relacionam a presença de citocinas a condições fisiológicas e patológicas da gestação e do parto, não se tem conhecimento de estudos tentando relacionar citocinas com proteínas de fase aguda como PCR e SAA.

3.1.2. AMILÓIDE SÉRICA A (SAA):

A família da amilóide sérica A (SAA) foi originalmente considerada como um único precursor circulante, a proteína amilóide A, principal componente de depósitos em grandes órgãos desenvolvidos na amiloidose secundária, uma doença inflamatória crônica. Atualmente são conhecidas várias proteínas expressas diferentemente desta família, sendo sintetizadas primariamente pelo fígado. Podem ter sua concentração plasmática aumentada mais de 1000 vezes em resposta a lesões, infecções, inflamação aguda ou neoplasia maligna, indicando um importante e benéfico papel na defesa do hospedeiro (URIELI-SHOVAL et al., 2000; UHLAR & WHITEHEAD, 1999; PATEL et al., 1998; DINARELLO, 1996; DUBOIS &

MALMENDIER, 1988). Durante a inflamação, SAA associa-se predominantemente com HDL₃ (terceira fração da lipoproteína de alta densidade) deslocando a apolipoproteína A-1 (apo A-1) (UHLAR & WHITEHEAD, 1999; DUBOIS & MALMENDIER, 1988).

O papel fisiológico da SAA ainda não foi esclarecido, mas várias funções e efeitos têm sido propostos. Entre eles podem ser incluídos o envolvimento com metabolismo e transporte de colesterol; modulação da resposta inflamatória com atividades anti e pró-inflamatórias; indução de adesão, migração e infiltração tecidual de monócitos, neutrófilos, linfócitos e mastócitos; indução de metaloproteinases de matriz (URIELI-SHOVAL, 2000). Alguns estudos sugerem que SAA poderia inibir o "burst" respiratório, prevenindo o dano tecidual oxidativo durante a inflamação, com efeito dose dependente (UHLAR & WHITEHEAD, 1999). A indução de adesão e quimiotaxia de monócitos e PMN humanos *in vitro* e *in vivo* poderia ser reduzida pela associação de SAA com HDL, indicando possível participação na modulação da resposta inflamatória (PATEL et al., 1998; XU et al., 1995; BADOLATO et al., 1994). SAA poderia também participar da quebra de tecido conectivo em sítios inflamatórios, estimulando a síntese de colagenase em fibroblastos humanos (BRINCKERHOFF, 1989). Ela tem sido associada com a indução de enzimas que degradam a matriz extracelular, indicando importante papel nos processos de reparo após a lesão tecidual (UHLAR & WHITEHEAD, 1999).

Em situações de infecção bacteriana ou viral, as concentrações de SAA são cerca de 10 vezes maiores que da PCR, tendendo a diminuir mais rapidamente (NAKAYAMA et al., 1993). Durante o período periparto, os valores de SAA acompanham o aumento de PCR (de VILLIERS et al., 1990), entretanto, pouco se sabe sobre o comportamento da SAA na gestação e parto, existindo alguns estudos feitos em mulheres grávidas com doenças reumáticas. Valores alterados de SAA são freqüentemente detectados em associação com valores normais de PCR, e apesar de haverem poucas informações sobre SAA em recém-nascidos, tem crescido o interesse em

sua utilização como marcador mais específico e sensível para detecção de infecções neonatais (ARNON et al., 2002; PIZZINI et al., 2000).

Além destas situações, trabalhos do nosso grupo demonstraram que SAA pode estimular a liberação de IL-1 β , TNF- α e IL-8 por PMN humanos em cultura, sendo esse efeito inibido pela associação de SAA com HDL (FURLANETO & CAMPA, 2000). Um efeito modulador poderia ser proposto, uma vez que citocinas como IL-1 β , TNF- α e IL-6 também poderiam induzir a transcrição de genes para SAA (UHLAR & WHITEHEAD, 1999; PATEL et al., 1998; BAUMANN & GAUDIE, 1994), indicando importante papel fisiológico desta proteína de fase aguda. O parto fornece uma oportunidade de estudo *in vivo*, da possível interação de proteínas de fase aguda, citocinas e neutrófilos em uma condição fisiológica onde se tem conhecimento da participação de uma resposta de fase aguda.

3.2. CITOCINAS E PARTO

Primariamente, o papel das citocinas pode ser autócrino, modulando propriedades da célula produtora; ou parácrino, onde a pequenas distâncias podem afetar outras células do sistema imune. Entretanto, em alguns aspectos, as citocinas são semelhantes a hormônios, atuando como mediadores distantes para células que não pertencem ao sistema imunológico. À medida que tentamos entender as funções das citocinas, uma importante questão surge sobre a complexidade e inter-regulação entre papéis protetores e potencialmente danosos destas substâncias (NESIN & CUNNINGHAM-RUNDLES, 2000).

As citocinas ligam-se a receptores específicos na membrana celular, estimulando vias de transdução de sinal que alteram a expressão gênica das células-alvo. São mediadores extremamente potentes, necessitando apenas de concentrações picomolares para exercer seus efeitos biológicos (GOLDSBY et al., 2000b; SHEERAN & HALL, 1997). Várias citocinas são chamadas de interleucinas, pois são secretadas e

atuam em leucócitos. Outras, como a IL-8, são capazes de alterar a quimiotaxia de leucócitos sendo classificadas como quimiocinas, exercendo importante papel na resposta inflamatória (GOLDSBY et al., 2000b).

Amostras de líquido amniótico são freqüentemente usadas para detecção de citocinas durante o parto, correspondendo a uma fonte fetal e materna de produção, tendo sido identificadas IL-1, TNF- α , IL-8 e IL-10, entre várias outras. Alterações nas concentrações do líquido amniótico poderiam indicar alterações inflamatórias causadas pelo trauma tecidual, associado com a dilatação cervical e o nascimento, quando há exposição de fragmentos de membranas ao canal vaginal (KELLY, 1996). Poucos trabalhos determinam a variação sistêmica das citocinas, como IL1- β , TNF- α e IL-8, em soro materno ou do recém-nascido, a fim de avaliar os efeitos circulatórios da resposta inflamatória localizada no miométrio.

Citocinas podem estimular a produção de prostaglandinas, que estão intimamente envolvidas com os mecanismos do parto, servindo como potente estímulo para contração do miométrio, além do amolecimento cervical e iniciação do parto (BOWEN et al., 2002a, HANSEN et al., 1999; KELLY, 1996). Por outro lado, prostaglandinas em conjunto com outras citocinas inibitórias podem inibir a liberação de algumas citocinas (KELLY, 1996). Um possível papel modulador destas substâncias poderia ser relacionado com os processos de regulação do trabalho de parto.

3.2.1. FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA (TNF- α):

TNF- α é uma citocina pró-inflamatória, produzida principalmente por macrófagos ativados, bem como monócitos e neutrófilos, em resposta a vários estímulos como produtos bacterianos, vírus e complexos imunes. Essa citocina tem a capacidade de inibir a proliferação de células amnióticas, estimular a síntese de prostaglandinas, induzir a morte programada de células (apoptose) e estimular a produção de enzimas que degradam a matriz extracelular (MAYMON et al., 1999).

O aumento de TNF- α no líquido amniótico sugere a participação fisiológica desta citocina durante o parto, uma vez que a sua concentração média, em mulheres em trabalho de parto a termo, é significativamente maior que naquelas fora de trabalho de parto. Este papel fisiológico poderia estar relacionado com o estímulo para produção de prostaglandinas, indução de apoptose e estímulo para degradação da matriz extracelular, promovendo a rotura de membranas e a dilatação cervical (MAYMON et al., 1999). A concentração de citocinas inflamatórias em secreções cervico-vaginais aumenta durante o trabalho de parto a termo, apresentando pico quando a dilatação cervical é completada. Os níveis de TNF- α na secreção cervico-vaginal aumentam acentuadamente após a rotura de membranas (BOWEN et al., 2002a). Pouco se conhece sobre os efeitos sistêmicos destas alterações localizadas durante o trabalho de parto.

A expressão de mRNA para TNF- α em amostras de sangue total não sofre grandes alterações durante a gestação, sendo maiores que em mulheres não grávidas. Vários estudos indicam a participação de TNF em mecanismos do parto associados à infecção (ROMERO et al., 1992), sendo esta citocina relacionada com condições patológicas de parto pré-termo ou abortos recorrentes. Poucos trabalhos avaliam a variação sérica materna desta citocina no momento do parto, em busca de um marcador para alterações perinatais.

3.2.2. INTERLEUCINA 1 BETA (IL-1 β):

Em resposta a alterações infecciosas e imunológicas, ocorre rápida produção de IL-1 β , que atua em várias células promovendo a síntese de outras citocinas (TNF- α , IL-6, IL-8) e mediadores de inflamação. A IL-1 β pode estar relacionada com a proliferação, ativação e migração de leucócitos; estimular modificações nas proteínas da matriz extracelular; provocar efeitos mitogênicos e citotóxicos; causar febre e ativar a resposta de fase aguda; promover a formação de prostaglandinas no miométrio, decídua e membranas fetais. Antes do início do trabalho de parto, na

presença de membranas intactas, não se detecta IL-1 β no fluido amniótico. Durante o trabalho de parto espontâneo a termo, sua presença pode ser constatada em amostras coletadas através de amniocentese trans-abdominal ou trans-uterina, com concentrações variando de 100 a 5000pg/mL. A produção de IL-1 β pode ser relacionada a fagócitos mononucleares ou neutrófilos ativados e recrutados para o líquido amniótico, após o início do trabalho de parto, quando ocorre a dilatação cervical e formação da bolsa amniótica, expondo as células decíduais na região vaginal (CUNNINGHAM et al., 2001). Assim o aumento das concentrações de IL-1 β (bem como de TNF- α) no líquido amniótico poderia variar e estar correlacionado com a infiltração de granulócitos na placenta (BOWEN et al., 2002a).

3.2.3. INTERLEUCINA 8 (IL-8):

A IL-8 é uma citocina com função quimiotática, que atua como estímulo migratório para neutrófilos, linfócitos e fibroblastos, podendo ser produzida principalmente por monócitos e macrófagos, e sua síntese pode ser estimulada por IL-1 e TNF- α (BOWEN et al., 2002a; CUNNINGHAM et al., 2001; SENTURK et al., 2001; BARCLAY et al., 1993). Além do recrutamento de neutrófilos, a IL-8 atua ativando essas células, servindo como importante estímulo para o rearranjo da matriz extracelular (KELLY, 1996; LAHAM et al., 1997), ativando a degranulação de grânulos específicos que contém colagenase e elastase (BARCLAY et al., 1993, OSMERS et al., 1995). Estudos indicam uma possível ação de IL-8 no amadurecimento cervical mediado por neutrófilos, pois concentrações aumentadas podem ser encontradas no segmento uterino inferior de mulheres em trabalho de parto a termo (SENTURK et al., 2001).

O amadurecimento do canal cervical é um pré-requisito para o início e progresso normal do trabalho de parto. Esse processo poderia ser semelhante àqueles envolvidos na rotura de membranas, que incluem mudanças na composição da matriz extracelular, invasão de neutrófilos e

remodelamento do tecido por enzimas proteolíticas. A IL-8 pode ser relacionada com o processo de amadurecimento cervical, pois seu aumento correlaciona-se com a infiltração de leucócitos e com concentrações de metaloproteinases no tecido (BOWEN et al., 2002a). Apesar da IL-8 ter sido identificada em tecidos intra-uterinos, pouco é conhecido sobre a sua liberação e regulação pelas membranas fetais e tecidos gestacionais humanos (LAHAM et al., 1997). Sua presença no momento do parto poderia ser acompanhada no soro materno, buscando indícios de uma evolução natural do trabalho de parto sem complicações, indicando um possível marcador de alterações nos mecanismos envolvidos no amadurecimento cervical.

3.3. NEUTRÓFILOS POLIMORFONUCLEARES E PARTO

Os neutrófilos polimorfonucleares (PNM) são as primeiras células a migrarem ao foco inflamatório, possuindo vários grânulos citoplasmáticos ricos em enzimas hidrolíticas, peroxidase, colagenase, lactoferrina e lisozima. São capazes de gerar grandes quantidades de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, durante a fagocitose e o "burst" respiratório (GOLDSBY et al., 2000a) responsáveis pela eliminação de agentes invasores. São considerados fagócitos profissionais, mas também apresentam a expressão de várias substâncias importantes para a resposta inflamatória, como receptores para Fc e componentes do complemento, proteínas catiônicas, NADPH oxidase, várias citocinas e quimiocinas, incluindo TNF- α , IL-1 β , IL-8, proteína inflamatória de macrófago 1 alfa (MIP-1 α) e 1 beta (MIP-1 β) (SCAPINI et al., 2000; CASSATELLA, 1995).

Desde 1980, tem sido proposto que neutrófilos podem atuar na quebra do tecido conectivo (colagenólise) durante o amadurecimento cervical, como agentes fisiológicos responsáveis pelo amolecimento do canal cervical a termo (KELLY et al., 1994; JUNQUEIRA et al., 1980). Esse mecanismo poderia ser mediado por IL-8, que apresenta potente capacidade para quimiotaxia e ativação de neutrófilos. Fibroblastos de culturas de tecido

conectivo cervical, obtidos durante a gravidez, têm a capacidade de produzir IL-8 em grandes quantidades, assim como outros tipos celulares do útero e placenta (OSMERS et al., 1995; BARCLAY et al., 1993). Além disso, a colagenase encontrada no canal cervical tem sido identificada como proveniente de neutrófilos, que pode estar presente em grânulos específicos, degranulados por indução de várias citocinas, incluindo IL-8. Essa duplicidade de ações da IL-8, recrutamento e ativação de neutrófilos, tornam-na um potente agente na iniciação do rearranjo da matriz extracelular (KELLY, 1996). Os neutrófilos poderiam ser considerados como células centrais dos eventos relacionados com o trabalho de parto. Sendo as primeiras recrutadas para o local, atuam produzindo citocinas que ativam e atraem outros leucócitos, bem como liberam enzimas responsáveis pela alteração do tecido conectivo. Além disso, são importantes para a defesa do organismo contra agentes invasores, durante uma condição fisiológica extrema como o trabalho de parto.

4. PARTO POR CESÁREA

Quando o trabalho de parto apresenta progressão anormalmente lenta, se tornando difícil, existe a indicação de intervenção, sendo a cesárea uma das alternativas. Nesses casos, usa-se o termo “distocia” para caracterizar a falta de condições para o bom progresso do trabalho de parto, que se torna prolongado ou não funcional; e a presença de desproporção céfalo-pélvica. As principais causas para a distocia podem ser classificadas em quatro alterações funcionais únicas ou combinadas: (a) alterações nas forças de expulsão; (b) alterações na condição (vitalidade, apresentação ou tamanho), posição (do pólo fetal em relação à bacia) ou desenvolvimento do feto; (c) alterações da pélvis óssea materna; e (d) alterações do canal de parto. Cerca de 43% dos casos de cesárea são devido a distocia, sendo apenas 14% devido a sofrimento fetal (DIZON-TOWNSON & KENNETH, 1997).

5. OBJETIVOS

O evento do parto oferece oportunidade única para se correlacionar *in vivo* a presença de citocinas (TNF- α , IL-1 β e IL-8) com uma resposta de fase aguda (PCR e SAA), e com conhecida presença de neutrófilos no processo. Assim, os objetivos deste trabalho foram:

- ⇒ Determinar e comparar em soro materno a concentração de TNF- α , IL-1 β , IL-8, PCR e SAA, durante o parto em quatro instantes de tempo: momento da internação (MI), momento do parto (MP), 24 horas após o parto (24H) e 60 horas após o parto (60H).

- ⇒ Determinar e comparar em soro de recém nascido, obtido através da veia de cordão umbilical, a concentração de TNF- α , IL-1 β , IL-8, PCR e SAA no momento do parto (MP).

6. CASUÍSTICA E MÉTODOS

As amostras foram obtidas junto ao Departamento de Obstetrícia e Ginecologia do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, após aprovação e liberação pela Comissão de Ética. As pacientes selecionadas assinaram termo de consentimento (ANEXO I), sendo informadas sobre o protocolo de pesquisa. Foram tomadas amostras nos tempos determinados, levando-se em consideração o bem estar de cada paciente. As coletas foram feitas entre novembro de 2000 e maio de 2001.

As pacientes selecionadas para o estudo seguiram os critérios de inclusão: trabalho de parto diagnosticado no momento da internação, com rotura de membranas com menos de 6 horas, sendo acompanhadas durante a evolução do parto e no pós-parto. Os critérios de exclusão foram: presença de patologia inflamatória, infecciosa ou auto-imune. Também foram excluídas 34 das pacientes contatadas, devido a algum fator clínico como: tempo de rotura de membranas superior a 6 horas, parto por fórcepe, trabalho de parto no período expulsivo, ausência de trabalho de parto, falta de coleta em um ou mais intervalos de tempo devido abandono do protocolo ou não coleta no tempo determinado. Houve uma paciente que não foi excluída, mas separada para discussão posterior.

As 24 pacientes do estudo foram avaliadas clinicamente (ANEXO II), sendo divididas em dois grupos: parto normal (PN) e parto por cesárea (PC). Foram feitas as determinações de PCR, SAA, IL-1 β , TNF- α e IL-8, sendo os resultados individuais apresentados no APÊNDICE DE TABELAS, bem como os principais dados clínicos coletados para cada uma delas. As amostras de soro (materno ou cordão umbilical) foram coletadas através de tubo de 6mL para coleta a vácuo com gel separador, marca Vacutainer[®]. Após a coleta, foram imediatamente encaminhadas para centrifugação e separação do soro, que foi congelado a -20°C, e posteriormente -70°C, até o momento da análise.

As determinações de citocinas (TNF- α , IL-1 β e IL-8) e proteínas de fase aguda (PCR e SAA) foram feitas através de reagentes comerciais para metodologia de ELISA, sendo para:

- ⇒ TNF- α , IL-1 β , IL-8 e PCR: utilizados reagentes da marca DPC Medlab para equipamento automatizado IMMULITE[®] System;
- ⇒ SAA: utilizados reagentes da marca Tridelta Phase[™] para técnica manual.

Os resultados obtidos foram avaliados no Centro de Estatística Aplicada – CEA-USP, através de análise estatística descritiva (média, mediana e desvio-padrão); análise gráfica (“boxplot”, perfil e diagrama de dispersão); análise de inferências (ANOVA – análise de variância com medidas repetidas, método de Bonferroni – comparações múltiplas); comparação de médias (teste t) e correlações (Pearson). As concentrações médias de PCR, SAA, TNF- α , IL-1 β e IL-8 foram comparadas durante os quatro momentos de coleta, verificando-se o comportamento ao longo do tempo para as amostras maternas. Além disso, foram verificadas possíveis correlações entre as amostras maternas e de cordão umbilical, no MP, buscando a presença ou não de diferenças entre PN e PC.

7. RESULTADOS

As concentrações médias de PCR (mg/dL) em soro materno (FIGURA 3), ao longo dos períodos de coleta, apresentaram comportamentos muito semelhantes para os dois tipos de parto (PN e PC), mas o conjunto de resultados entre os dois grupos foi estatisticamente diferente ($p = 0,01$). A diferença foi determinada pelo período de 24 e 60 horas após o parto, onde foram obtidos os valores máximos, sendo maiores os resultados obtidos para o grupo de PC, quando comparados com PN. Não houve diferenças entre as determinações feitas no MI e MP, sendo estas estatisticamente diferentes dos períodos de 24H e 60H ($p < 0,01$).

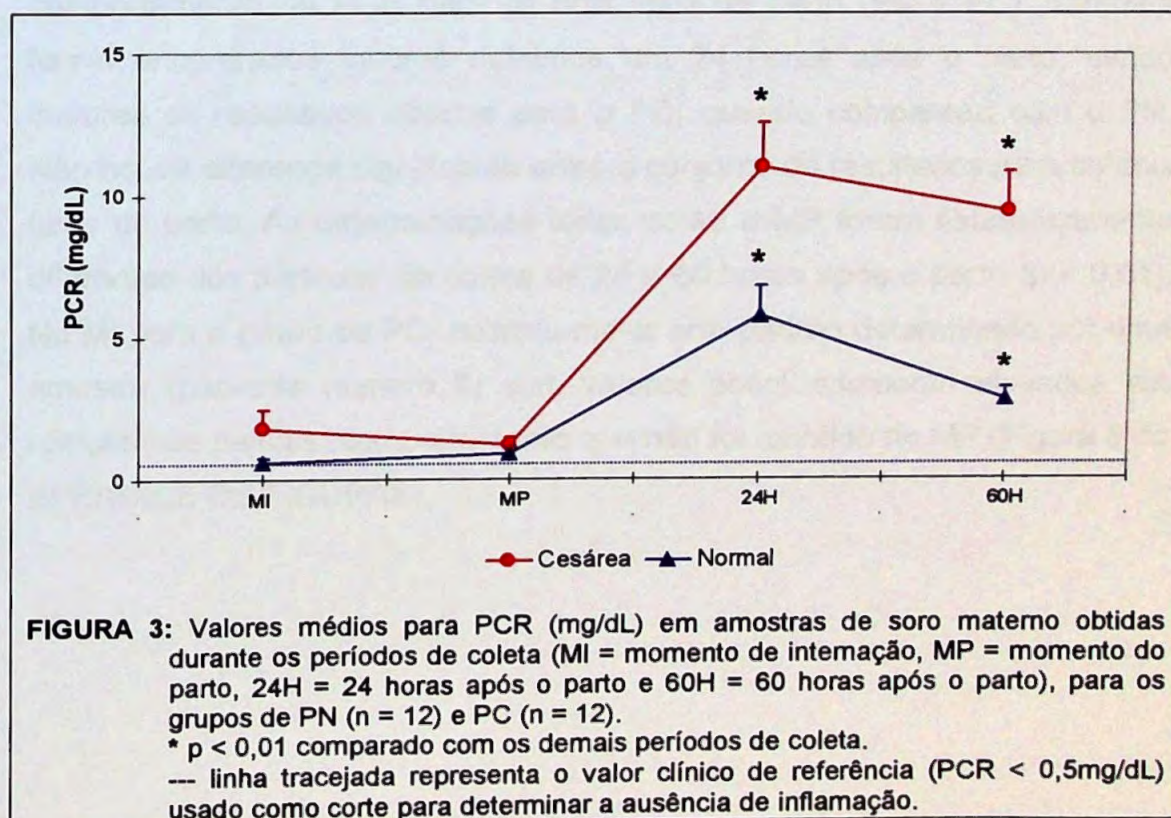


FIGURA 3: Valores médios para PCR (mg/dL) em amostras de soro materno obtidas durante os períodos de coleta (MI = momento de internação, MP = momento do parto, 24H = 24 horas após o parto e 60H = 60 horas após o parto), para os grupos de PN ($n = 12$) e PC ($n = 12$).

* $p < 0,01$ comparado com os demais períodos de coleta.

--- linha tracejada representa o valor clínico de referência (PCR < 0,5mg/dL) usado como corte para determinar a ausência de inflamação.

A linha tracejada do gráfico representa o valor de referência adotado como indicativo da ausência de inflamação, sendo o valor de PCR inferior a 0,5mg/dL. Verifica-se que os resultados obtidos para os dois

grupos estão acima destes valores deste o MI, indicando a necessidade de valores específicos para mulheres na gestação e em trabalho de parto. Apesar do grupo PC apresentar maior aumento aparente, esse não é estatisticamente diferente quando comparado com PN ($p = 0,144$).

Observando-se os valores individuais de cada mãe ao longo do tempo (Figura 1 e 2 do APÊNDICE DE FIGURAS), verifica-se que o conjunto de resultados para PN apresenta menor dispersão quando comparado com o grupo de PC. As variações do PC são maiores, com comportamentos variados entre 24 e 60 horas após o parto, alguns valores permaneceram constantes, outros diminuíram ou aumentaram em 60 horas.

As concentrações médias de SAA ($\mu\text{g/mL}$) em soro materno (FIGURA 4), ao longo dos períodos de coleta, acompanharam o comportamento da PCR para os dois tipos de parto (PN e PC). Também foram encontrados valores máximos em 24 horas após o parto, sendo maiores os resultados obtidos para o PC, quando comparado com o PN. Não houve diferença significativa entre o conjunto de resultados para os dois tipos de parto. As determinações feitas no MI e MP foram estatisticamente diferentes dos períodos de coleta de 24 e 60 horas após o parto ($p < 0,01$). No MI para o grupo de PC, ocorreu maior erro-padrão determinado por uma amostra (paciente número 9) com valores acentuadamente elevados em relação aos demais, comportamento que não foi mantido no MP (Figura 5 do APÊNDICE DE FIGURAS).

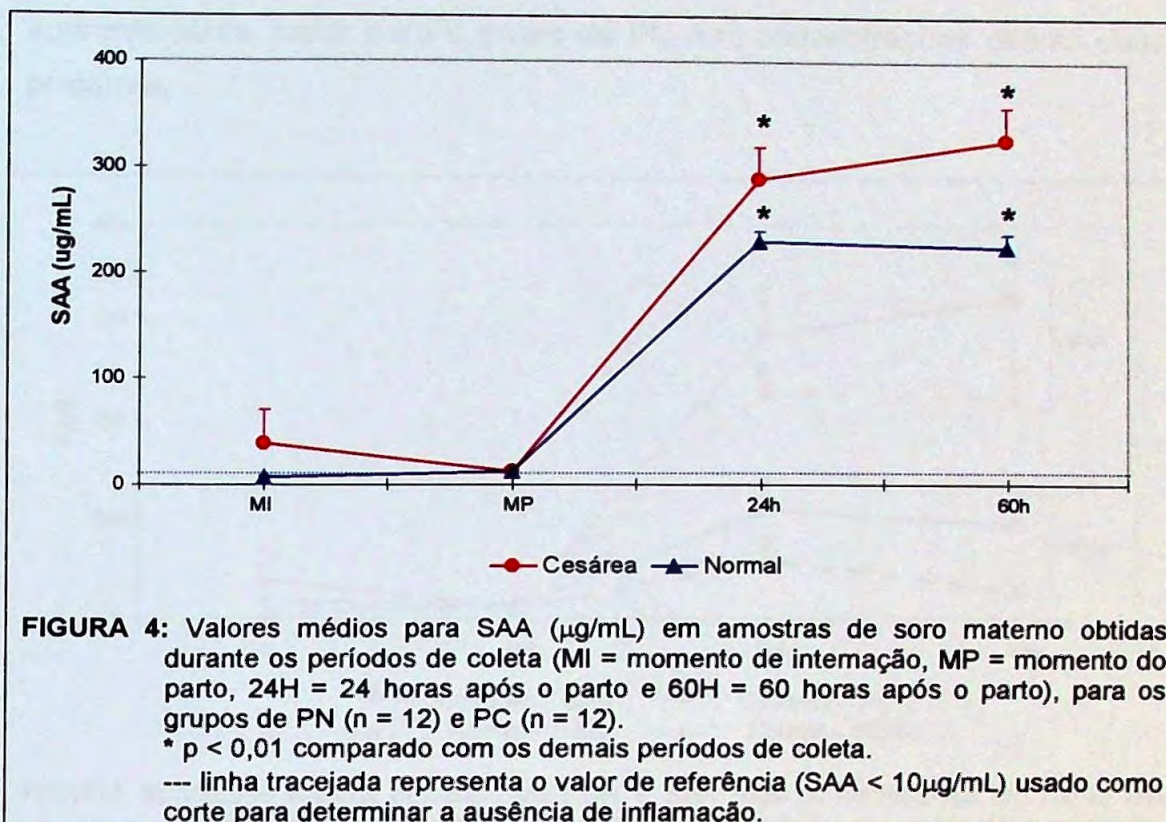


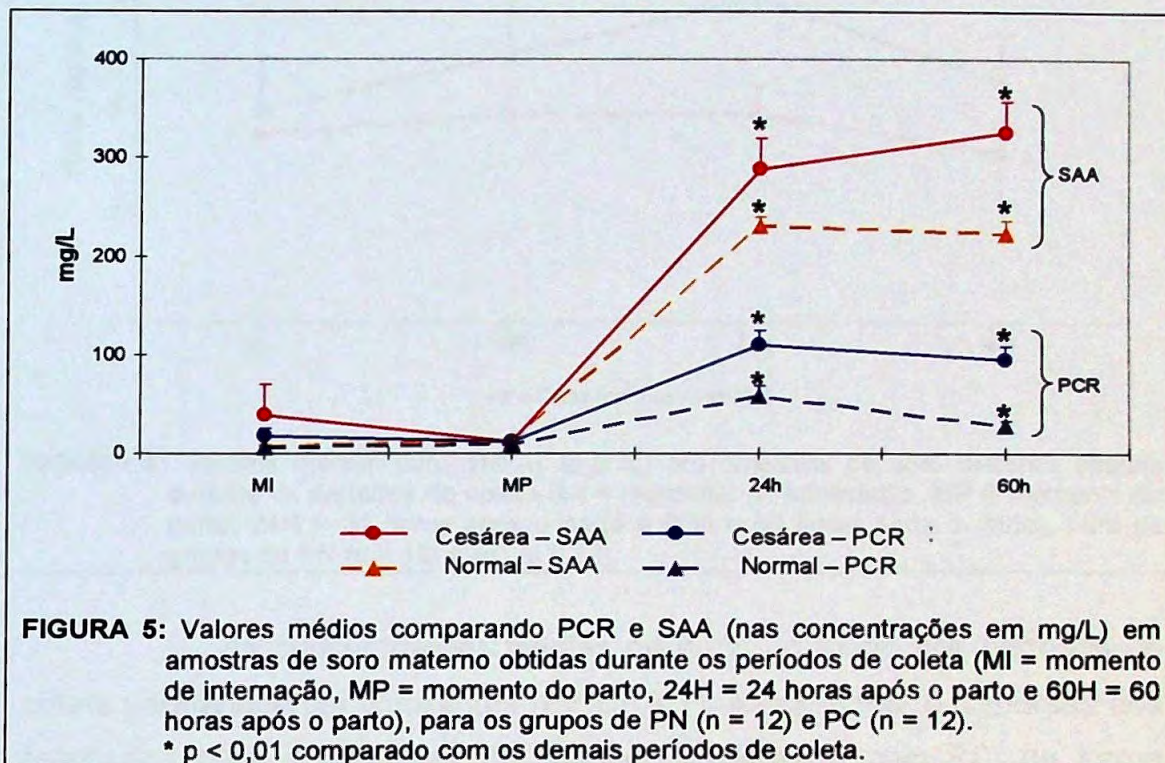
FIGURA 4: Valores médios para SAA ($\mu\text{g/mL}$) em amostras de soro materno obtidas durante os períodos de coleta (MI = momento de intimação, MP = momento do parto, 24H = 24 horas após o parto e 60H = 60 horas após o parto), para os grupos de PN ($n = 12$) e PC ($n = 12$).

* $p < 0,01$ comparado com os demais períodos de coleta.

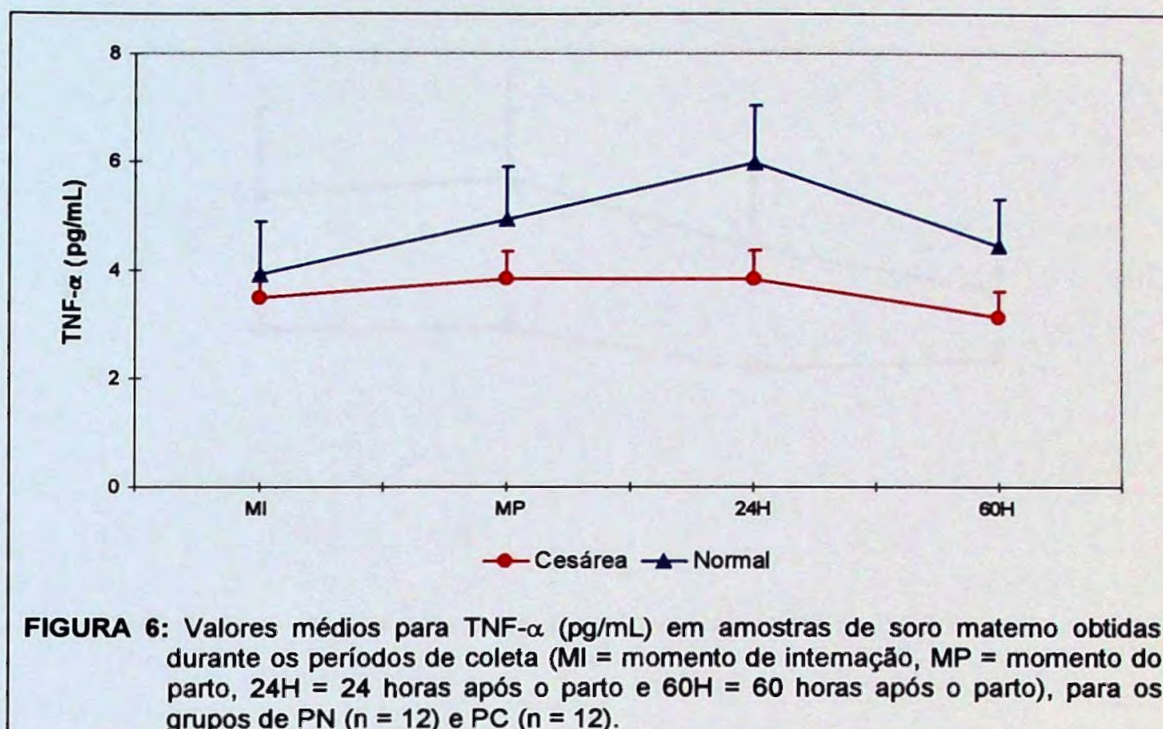
--- linha tracejada representa o valor de referência (SAA < 10µg/mL) usado como corte para determinar a ausência de inflamação.

Como o comportamento de PCR e SAA foram semelhantes, buscou-se uma análise comparada entre essas duas proteínas através de um gráfico único (FIGURA 5). Verifica-se claramente que os resultados obtidos para SAA foram maiores que os de PCR, quando comparados nas concentrações de mg/L. As concentrações destas proteínas tendem a diminuir após 24 horas, com aparente exceção para SAA do grupo de PC. Os valores de PCR após o parto aumentaram cerca de 10 a 20 vezes, quando comparados com o valor de corte para presença de inflamação (inferior a 0,5mg/dL), usado na prática clínica. Já os valores de SAA aumentaram cerca de 20 a 30 vezes em comparação com o valor de corte de 10µg/mL. Os valores de referência clínica para SAA não estão totalmente estabelecidos, uma vez que sua utilização apresenta menor abrangência que a PCR. Alguns autores adotam o valor de 0,4µg/mL (TIETZ, 1995), outros indicam valores inferiores a 10µg/mL (fabricante do reagente utilizado nas determinações de SAA – Tridelta Phase™). Desde o MI, ocorreram aumentos nas concentrações de PCR e SAA, sendo o aumento

aparentemente maior para o grupo de PC nas concentrações destas duas proteínas.



As concentrações médias de TNF- α foram constantes ao longo dos períodos de coleta (FIGURA 6), sendo que para o grupo de PN foi observada maior dispersão dos resultados quando comparados com PC (Figura 8 e 9 do APÊNDICE DE FIGURAS), mas não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos. O fabricante dos reagentes para determinação de TNF- α (DPC Medlab) indica valor esperado inferior a 8,1pg/mL, em estudo feito com 58 indivíduos saudáveis, sendo que os nossos resultados estão compreendidos dentro deste intervalo. Apesar do parto ser relacionado com aumento da resposta inflamatória localizada no miométrio, isso não é refletido de forma sistêmica na população estudada.



As concentrações médias de IL-1 β ao longo dos períodos de coleta permaneceram constantes (FIGURA 7), sendo maior a dispersão dos resultados para o grupo de PN, quando comparado com PC, de forma semelhante aos resultados de TNF- α . Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos de parto. Os valores esperados para IL-1 β indicados pelo fabricante (DPC Medlab) são inferiores a 5pg/mL, obtidos de população de 47 indivíduos saudáveis. Os resultados obtidos foram muito abaixo destes valores esperados, também podendo indicar que a resposta inflamatória localizada não pode ser verificada de forma sistêmica. A maior variação encontrada no grupo de PN foi determinada pela paciente número 13, que apresentou valores aumentados em todos os períodos de coleta (Figura 11 do APÊNDICE DE FIGURAS). Não foram encontradas alterações clínicas que pudessem justificar esse comportamento, por isso os resultados obtidos não foram excluídos da análise estatística.

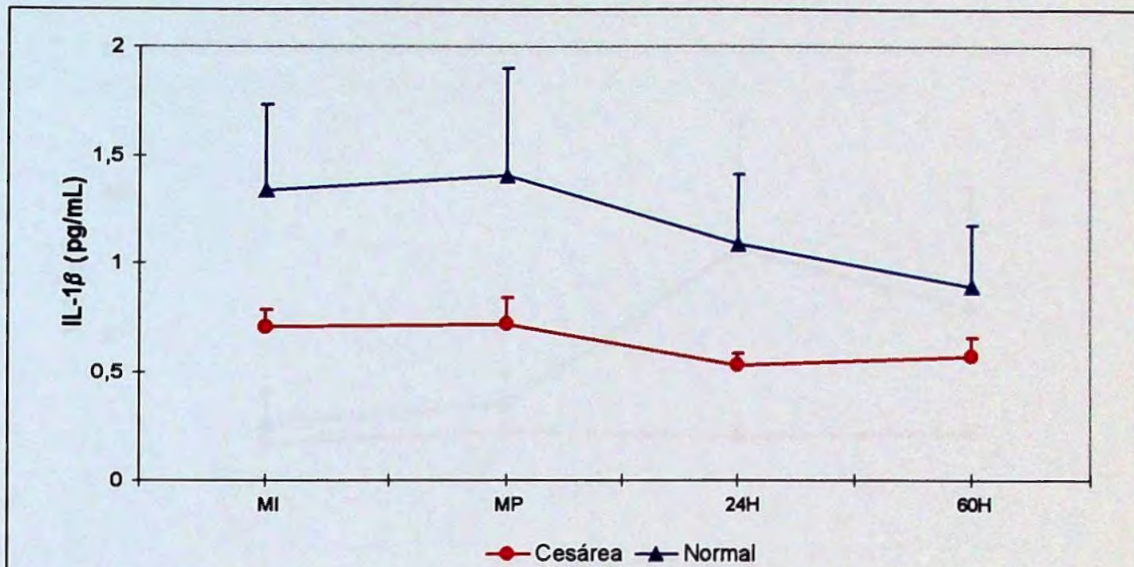
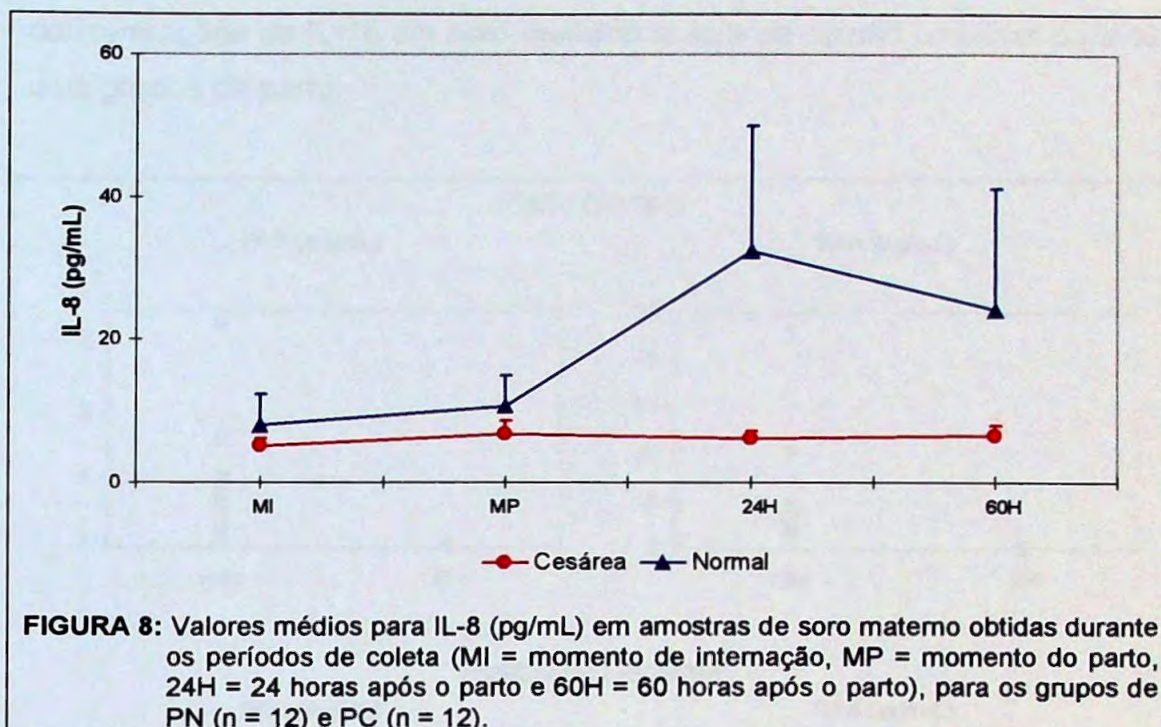


FIGURA 7: Valores médios para IL-1 β (pg/mL) em amostras de soro materno obtidas durante os períodos de coleta (MI = momento de internação, MP = momento do parto, 24H = 24 horas após o parto e 60H = 60 horas após o parto), para os grupos de PN (n = 12) e PC (n = 12).

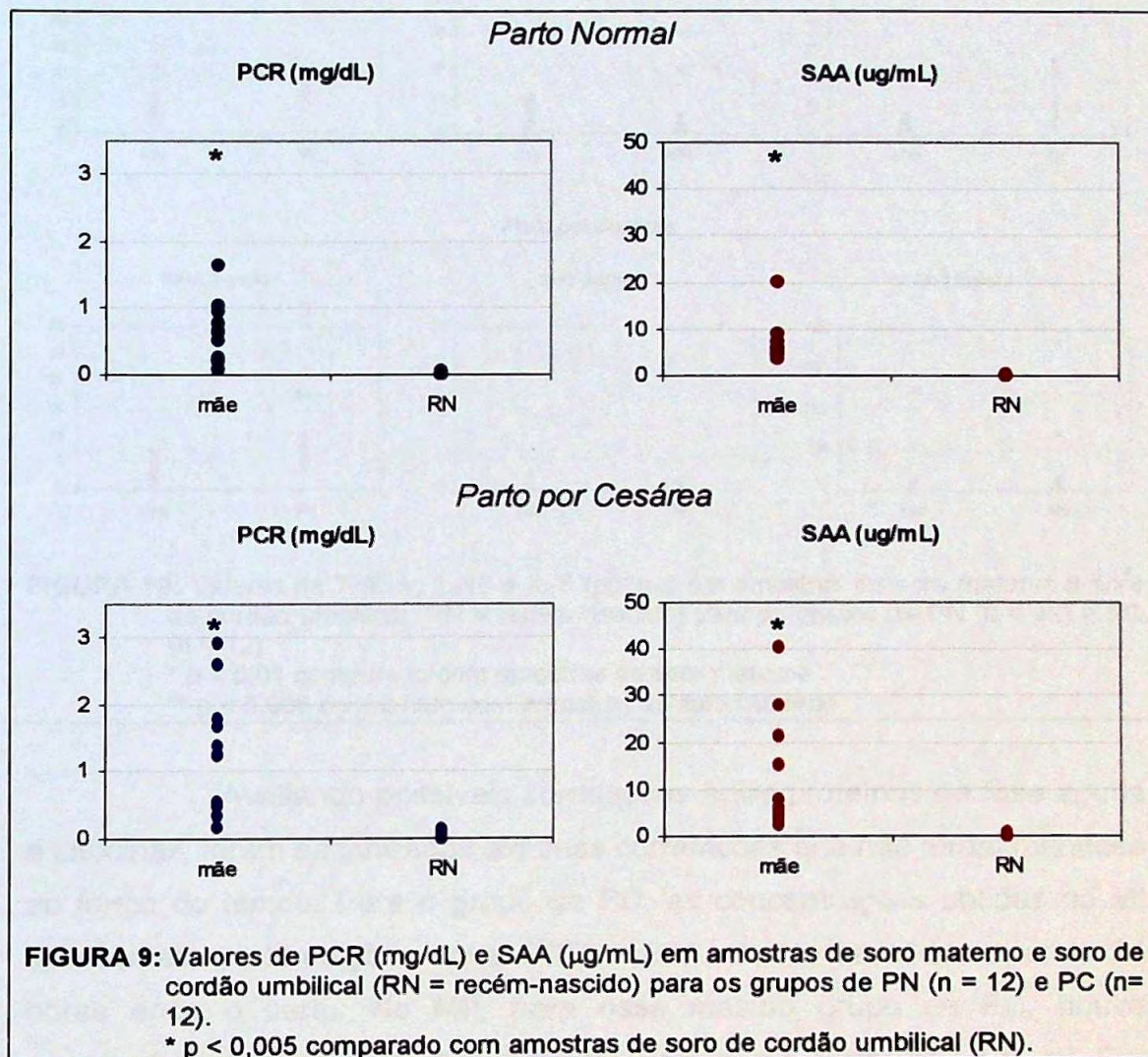
As concentrações médias de IL-8 permaneceram constantes ao longo dos períodos de coleta (FIGURA 8), a semelhança do que ocorreu para TNF- α e IL-1 β . Não houve diferença significativa entre os dois grupos de parto (PN e PC), apesar da aparente diferença entre as cinéticas. Observando-se as figuras com os valores individuais maternos (Figuras 14 e 15 do APÊNDICE DE FIGURAS), verificou-se que o grupo de PC também apresenta grandes variações de comportamento ao longo do tempo, apesar do menor erro-padrão observado. Os valores esperados para IL-8 indicados pelo fabricante (DPC Medlab) são inferiores a 62pg/mL, obtidos de população de 50 indivíduos saudáveis. Os resultados obtidos para IL-8 acompanharam o mesmo comportamento de TNF- α e IL-1 β , permanecendo muito abaixo destes valores esperados. Isso poderia ser mais um indício que a resposta inflamatória localizada no miométrio não pode ser verificada de forma sistêmica em amostras de soro materno, ao longo do trabalho de parto e pós-parto.

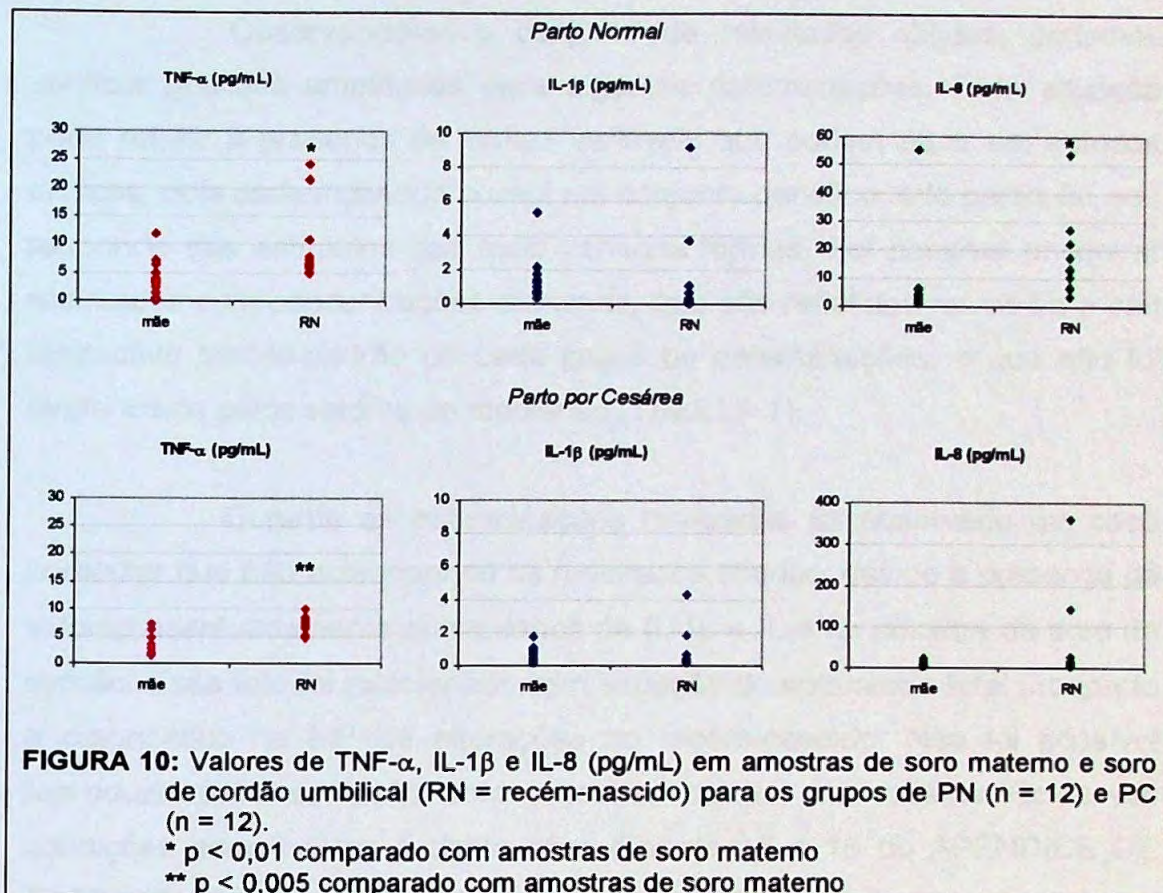


Quando as concentrações obtidas para os recém-nascidos no PN e PC foram comparadas, não houve diferença estatística entre os dois grupos, tanto para as proteínas de fase aguda, como para as citocinas. Foram feitos estudos para avaliar uma possível interação entre as concentrações dos recém-nascidos (RN) e suas respectivas mães no MP (FIGURA 9 e 10). Nenhuma correlação pôde ser encontrada para as citocinas ou PCR, sendo observada uma possível relação entre mãe e RN para SAA, apenas no grupo PC (Figura 7 do APÊNDICE DE FIGURAS).

Apesar de não haverem correlações entre os pares mãe – RN, houve diferença significativa quando as concentrações obtidas em soro materno foram comparadas com as de soro do cordão umbilical (RN). Para as proteínas de fase aguda (PCR e SAA), nos dois grupos de parto, as concentrações no RN foram bem menores quando comparadas com as concentrações maternas ($p < 0,005$). No grupo de PN, as citocinas TNF- α e IL-8 apresentaram diferenças significantes entre soro materno e soro de cordão ($p < 0,01$), sendo que para o grupo de PC, essas diferenças foram mantidas com $p < 0,005$ para TNF- α , apenas. Não houve diferença entre as

concentrações de IL-1 β em soro materno e soro de cordão umbilical para os dois grupos de parto.





Avaliando possíveis correlações entre proteínas de fase aguda e citocinas, foram encontradas algumas correlações que não foram mantidas ao longo do tempo. Para o grupo de PC, as concentrações obtidas no MI apresentaram correlações entre PCR e SAA, sendo repetidas apenas 24 horas após o parto. No MP, para esse mesmo grupo de PC, houve correlação entre IL-1 β e IL-8 ($p < 0,001$), bem como entre PCR e IL-1 β . Em 60 horas após o parto (PC), repetiu-se a correlação entre PCR e IL-1 β . Já para o grupo de PN, foram encontradas correlações entre TNF- α e IL-1 β e entre PCR e SAA, durante os períodos de MI e MP. Após 24 horas do parto (PN), obteve-se correlação entre TNF- α e IL-8. Entre as concentrações obtidas para os recém-nascidos foi possível encontrar correlação entre as concentrações de PCR e IL-1 β , IL-8 e SAA, para o grupo de PC, o que não foi visto para o grupo de PN, que apresentou correlação apenas entre TNF- α e IL-1 β .

Observando-se o conjunto de resultados obtidos, podemos verificar grandes amplitudes para algumas determinações. Essa situação pode refletir a presença de muitas variáveis que podem atuar em estudos clínicos, pois cada indivíduo possui um conjunto genético todo particular que responde aos estímulos das mais variadas formas. Foi possível encontrar resultados com concentrações extremas, que são refletidas na média e seu respectivo desvio-padrão de cada grupo de determinações; o que não foi evidenciado pelos valores de medianas (TABELA 1).

Durante as determinações realizadas foi observado um caso particular que não acompanhou os resultados obtidos, devido a presença de valores acentuadamente aumentados de IL-1 β e IL-8 na amostra de soro de cordão. Esse fato foi relacionado com situação de sofrimento fetal intraparto e diagnóstico no MP de alterações no recém-nascido. Não foi possível reproduzir essa condição com amostras obtidas de recém-nascido em condições semelhantes à deste caso (Tabela 15 e 16 do APÊNDICE DE TABELAS). As concentrações de proteínas de fase aguda no soro materno foram aumentadas desde o MP, alcançando maiores elevações em 24 e 60 horas após o parto (FIGURA 11), quando comparadas com os valores médios das figuras anteriormente apresentadas (FIGURAS 3, 4 e 5). Para as concentrações de TNF α e IL-1 β não foram encontradas variações ao longo dos períodos de coleta, o que não ocorreu para IL-8, que apresentou aumentos no MP e 60 horas após o parto (FIGURA 11), também quando comparado com as figuras anteriormente apresentadas (FIGURAS 6, 7 e 8).

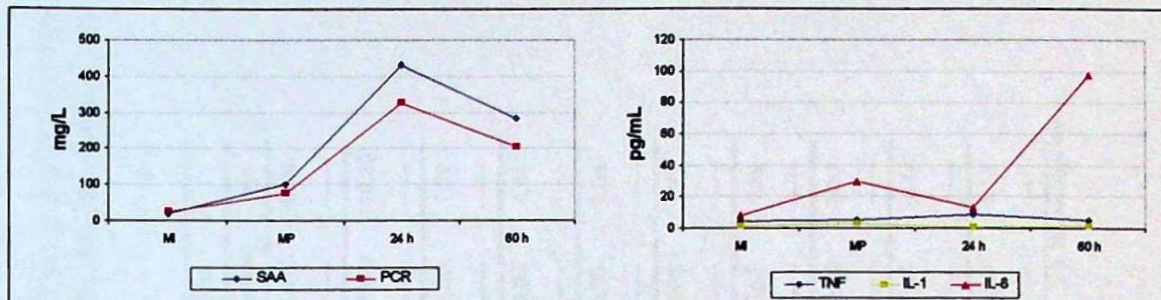


FIGURA 11: Valores de SAA e PCR (mg/L), TNF- α , IL-1 β e IL-8 (pg/mL) em amostras de soro materno obtidas para um caso específico diagnosticado como sofrimento fetal intraparto.

TABELA 1: Resumo de resultados de proteínas de fase aguda e citocinas obtidos para o parto normal (PN) e parto cesárea (PC), em cada momento de coleta obtidos para mãe e recém-nascido, apresentados através de média, mediana e desvio-padrão.

Variáveis	Parto	Indivíduo	MI						MP						Tempo					
			Média		Mediana		DP		Média		Mediana		DP		Média		Mediana		DP	
			Mãe	Filho	Mãe	Filho	Mãe	Filho	Mãe	Filho	Mãe	Filho	Mãe	Filho	Mãe	Filho	Mãe	Filho	Mãe	Filho
SAA ($\mu\text{g/mL}$)	PN	Mãe	7,07	5,63	4,44	12,44	8,67	10,73	230,17	234,00	31,80	223,50	214,50	42,93						
	PN	Filho				0,20	0,14	0,10												
PCR (mg/mL)	PC	Mãe	38,82	5,53	108,35	12,38	6,19	11,85	288,42	254,50	105,89	325,25	325,00	110,30						
	PC	Filho				0,24	0,17	0,21												
TNF- α (pg/mL)	PN	Mãe	0,63	0,58	0,43	0,92	0,88	0,70	5,81	4,77	3,55	2,81	2,80	1,52						
	PN	Filho				0,44	0,58	0,25												
IL-1 β (pg/mL)	PC	Mãe	1,79	0,83	2,44	1,24	1,25	0,88	11,02	10,61	5,29	9,45	9,25	4,84						
	PC	Filho				0,48	0,36	0,50												
IL-8 (pg/mL)	PN	Mãe	3,89	3,30	3,37	4,94	4,35	3,27	5,97	5,15	3,67	4,43	3,85	3,04						
	PN	Filho				9,52	7,05	6,41												
IL-6 (pg/mL)	PC	Mãe	3,46	3,45	1,62	3,82	3,50	1,75	3,82	3,90	1,81	3,11	3,05	1,72						
	PC	Filho				7,00	6,95	1,50												
IL-1 α (pg/mL)	PN	Mãe	1,33	0,88	1,36	1,40	0,91	1,71	1,08	0,74	1,10	0,89	0,57	0,99						
	PN	Filho				1,36	0,31	2,66												
IL-1 γ (pg/mL)	PC	Mãe	0,70	0,70	0,29	0,71	0,69	0,42	0,53	0,52	0,19	0,57	0,50	0,30						
	PC	Filho				0,80	0,33	1,18												
IL-1 δ (pg/mL)	PN	Mãe	8,04	3,95	14,84	10,56	5,25	15,13	32,35	10,30	30,75	24,16	5,65	58,64						
	PN	Filho				15,30	11,50	14,20												
IL-1 ϵ (pg/mL)	PC	Mãe	5,15	3,80	3,38	6,78	4,35	6,16	6,10	5,10	3,68	6,55	4,50	5,15						
	PC	Filho				51,26	11,55	104,12												

PN: parto normal

60h: 60 horas após o parto

MI: momento da internação

MP: momento do parto

PC: parto cesárea não eletiva

DP: desvio padrão

24H: 24 horas após o parto

8. DISCUSSÃO

Considerando a evidência de que um processo inflamatório pode estar envolvido com os mecanismos de iniciação do parto, o objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento conjunto de proteínas de fase aguda (PCR e SAA) e de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β e IL-8) no soro de mulheres durante a admissão para o trabalho de parto (MI), no momento do parto (MP) e no pós-parto (24 e 60 horas após o parto). Também se buscou avaliar a presença destas proteínas e citocinas em amostras de soro de cordão umbilical, a fim de estabelecer as concentrações destas substâncias no recém-nascido durante o MP.

Existem mais de 30 proteínas envolvidas com a resposta de fase aguda, sendo algumas utilizadas como importantes marcadores da presença e extensão do processo inflamatório, como a PCR (DU CLOS & MOLD, 2001; SHEERAN & HALL, 1997). Foram encontrados aumentos acentuados das proteínas de fase aguda (FIGURA 3, 4 e 5) após o trabalho de parto, podendo demonstrar semelhanças entre o processo inflamatório e o parto, uma vez que esse processo pode estar relacionado com mudanças fisiológicas que lembram inflamação (KELLY, 1996). Alguns estudos sugerem que o início da resposta de fase aguda durante o parto poderia coincidir com a própria iniciação do parto (KELLY, 1996), o que poderia estar sendo confirmado pelo aumento de PCR e SAA nos períodos de 24 e 60 horas após o parto. Esse aumento evidenciaria os traumas dos mecanismos do trabalho de parto, vistos no PN, bem como no PC. Os resultados obtidos no momento da internação e do parto apresentaram um pequeno aumento, em relação aos valores de referência que são adotados clinicamente, sugerindo a participação destas proteínas em eventos sinalizadores para o início do parto. As diferenças entre PN e PC podem ser atribuídas aos diferentes graus de lesão tecidual (DE MEEUS et al., 1998; ROMEN & ARTAL, 1985), o que foi claramente visto pelo maior aumento de PCR e SAA no grupo de PC.

É importante notar que a inflamação pode apresentar um perfil regular de alterações nas concentrações das proteínas séricas, de maneira independente do estímulo desencadeador do processo, sendo também interessante o fato de que o parto apresenta o mesmo padrão de comportamento. O aumento sérico de PCR, cerca de 10 a 20 vezes, bem como o aumento de SAA, cerca de 40 a 50 vezes (FIGURA 5), que foi encontrado em 24 horas após o parto, apresentam a mesma magnitude observada em infecções bacterianas e virais (NAKAYAMA, 1993). Isto poderia evidenciar o nosso desconhecimento sobre o papel biológico das proteínas de fase aguda, pois elas podem estar relacionadas com vários processos diferentes do organismo.

Alguns estudos buscaram estabelecer a aplicação das concentrações séricas de PCR para os casos de infecção subclínica em mulheres grávidas com rotura prematura de membranas ovulares (RPMO), não sendo obtidas conclusões que pudessem estabelecer com clareza sua utilidade (WATTS et al., 1991). O fato de não se ter ainda estabelecido os níveis normais de PCR durante a gestação, parto e pós-parto em condições de ausência de alterações, pode explicar a dificuldade de sua utilização para o prognóstico de infecção em pacientes com RPMO (ROMEN & ARTAL, 1985). Os valores de PCR tendem a ser maiores na gestação, quando comparados com mulheres não grávidas, apresentando evidências que o trabalho de parto sozinho, sem infecção clínica ou inflamação, poderia aumentar os níveis de PCR (WATTS et al., 1991).

A PCR tem sido reconhecida como participante dos mecanismos de opsonização de patógenos, com o objetivo de facilitar a eliminação destes agentes pelo organismo (DU CLOS & MOLD, 2001; VOLANAKIS, 2001). A presença de concentrações aumentadas durante o pós-parto, poderia evidenciar uma função protetora da PCR na circulação materna, devido a sua capacidade de ativar a via clássica do complemento, bem como a resposta de células fagocíticas, justificando os aumentos nesse período.

Em nosso trabalho, buscou-se avaliar a participação de uma outra proteína de fase aguda durante o parto, a SAA. As alterações do tecido conectivo para a formação do canal do parto para a passagem do feto são acentuadas, sendo conhecida de longa data a participação da degradação de colágeno nesse processo (JUNQUEIRA et al., 1980), mediado pela presença de neutrófilos. A SAA foi descrita como estímulo para adesão, migração, infiltração tecidual de monócitos e neutrófilos polimorfonucleares humanos, tanto *in vitro* como *in vivo* (PATEL et al., 1998; BADOLATO et al., 1994), bem como de linfócitos (XU et al., 1995). Poderíamos imaginar que a presença da SAA no momento do parto poderia estar auxiliando no recrutamento destas células envolvidas com o processo de dilatação e esvaecimento do canal cervical. Estudos antigos sugerem a participação de SAA na modulação da quebra do tecido conectivo em sítios inflamatórios, através do estímulo para a síntese de colagenase em fibroblastos (BRINCKERHOFF, 1989). Assim, a SAA poderia atuar como um importante facilitador da dilatação cervical, através de estímulo para produção de colagenase por células como macrófagos e neutrófilos polimorfonucleares reconhecidamente recrutados durante o processo do trabalho de parto. Esse fato pode ser confirmado pela possível participação da SAA nos processos de reparo após lesão tecidual, pois ela também poderia atuar induzindo as enzimas que degradam a matriz extracelular (UHLAR & WHITEHEAD, 1999).

Alguns trabalhos recentes do nosso grupo buscam contribuir para o esclarecimento das funções biológicas da SAA, mostrando claramente sua atuação em funções de neutrófilos humanos, estimulando a liberação de citocinas inflamatórias, como TNF- α , IL-1 β e IL-8 (FURLANETO & CAMPA, 2000). Além disso, a SAA poderia ter a capacidade de causar o "*priming*"² de neutrófilos (HATANAKA et al., 2002), indicando que o aumento de SAA poderia representar resposta preventiva na proteção do hospedeiro. Juntamente com as concentrações aumentadas de PCR no pós-parto,

² "*Priming*": mecanismo que prepara a célula para a ação, sem provocar sua completa ativação, deixando-a pronta para agir.

poderiam ainda indicar o possível papel protetor das proteínas de fase aguda durante os eventos relacionados com o parto.

Existem alguns trabalhos relacionando a presença de citocinas na gestação e parto, sendo a boa parte destes estudos feitos em amostras de líquido amniótico relacionadas com parto pré-termo (ROMERO et al., 1992; ARNTZEN et al., 1998) e infecção (ROMERO et al., 1989), ou amostra de secreção cervico-vaginal. Existe carência de estudos que buscam determinar os valores de referência destes mediadores na fisiologia da gestação e parto, bem como em amostras de soro materno obtidas durante o trabalho de parto e pós-parto. Um fator importante a ser levado em consideração é a grande variação individual obtida nas determinações séricas destas citocinas (TABELA 1), também comprovada em outros estudos.

Neste trabalho buscamos avaliar as alterações séricas das citocinas pró-inflamatórias durante a gestação e parto, uma vez que não são descritas ou estudadas as associações destas com proteínas de fase aguda (VASSILIADIS et al., 1998; LAHAM et al., 1994; OPSJLN et al., 1993). Nossos resultados apresentaram grandes dispersões para as concentrações séricas de TNF- α , IL-1 β e IL-8, ocorrendo valores extremos para todas elas. Verificou-se não haver coincidência de indivíduos, bem como a associação com alguma evolução clínica particularmente diferente.

Os níveis séricos de TNF- α e IL-1 β apresentaram-se constantes ao longo do tempo, sendo os resultados obtidos para TNF- α compatíveis com trabalhos anteriores. Por exemplo, a expressão de mRNA para TNF- α , em preparações de sangue total, não apresentou alterações significativas durante a gestação e após o parto, apesar de levemente aumentada em relação a mulheres não grávidas (KRUSE et al., 2000). Estudos também demonstraram que não ocorre diferença na concentração de TNF- α entre tipos de parto, normal ou cesárea. Na ausência de infecção, o trabalho de parto parece não influenciar os níveis de TNF- α no sangue materno ou líquido amniótico (BUONOCORE et al., 1995), o que também foi observado em nossos resultados. Não houve aumento de IL-1 β durante o

parto, sendo obtido um padrão homogêneo semelhante àquele observado para TNF- α .

Em condições de infecção, as mudanças nas concentrações das citocinas são semelhantes às encontradas no trabalho de parto, sendo encontrado aumento de IL-1 no líquido amniótico e sangue materno da placenta (STALLMACH et al., 1995). Alguns trabalhos indicam uma variação de 0 a 50pg/mL de IL-1 observada em amostras de sangue de adultos saudáveis (sem gravidez), também indicam que concentrações de IL-1 não podem ser detectadas em amostras de sangue periférico materno ou fetal (venoso ou arterial).

STALLMACH et al., 1995 demonstraram que IL-8 só pode ser detectada em baixas concentrações no sangue materno e fetal durante a gestação normal, o que pôde ser confirmado também através de nosso estudo. As baixas concentrações séricas de IL-8 podem ser uma evidência de que a resposta inflamatória localizada não está sendo refletida de forma sistêmica, uma vez que altas concentrações de IL-8 podem ser encontradas em amostras de líquido amniótico (média de 1500pg/mL). A concentração materna na placenta de IL-8 é cerca de 50 vezes maior que no sangue periférico, sendo encontrado aumento de citocinas no líquido amniótico durante o trabalho de parto. A IL-8 tem sido a citocina mais freqüentemente associada com infecção amniótica, sendo discutida a presença deste fator quimiotático na gravidez, bem como o significado de sua elevação neste período. Alguns estudos indicam que, mesmo na presença de infecção, a concentração de IL-8 no sangue periférico materno pode permanecer muito baixa (STALLMACH et al., 1995).

Não se conhece como as citocinas intra-uterinas exercem seu papel no início do trabalho de parto ou mesmo se a produção de citocinas é uma consequência do processo do trabalho de parto e nascimento. Vários estudos têm documentado a infiltração do canal cervical e segmento inferior do útero com neutrófilos e macrófagos antes do trabalho de parto, possivelmente em resposta a agentes quimiotáticos como a IL-8, sugerindo que alguma forma de ativação inflamatória poderia estar envolvida com os

mecanismos do parto normal, bem como poderia haver envolvimento de citocinas com esses mecanismos (KEELAN et al., 1999). As concentrações de citocinas em tecidos de mulheres que apresentaram parto pré-termo são maiores que as observadas após o trabalho de parto a termo, indicando que a inflamação observada, além de ser uma resposta natural ao parto, poderia ser parte da patogênese do trabalho de parto pré-termo. Vários trabalhos, incluindo aqueles baseados nas determinações de citocinas em líquido amniótico, têm sugerido que a infecção subclínica é uma importante causa, se não a principal causa, de trabalho de parto pré-termo e nascimento (KEELAN et al., 1999). O organismo aproveita mecanismos de defesa para iniciação do trabalho de parto, na presença de infecções, buscando uma forma de proteção para a mãe. É interessante o fato de um mesmo mecanismo ser usado para benefício e efetivação do parto no momento adequado, bem como no parto pré-termo. Acredita-se que um delicado e complexo equilíbrio entre várias citocinas é necessário para o estabelecimento e manutenção de uma gravidez bem sucedida. A quebra deste equilíbrio, durante uma infecção intra-uterina, por exemplo, pode levar a complicações da gravidez e tem sido relacionada com a patogênese de várias doenças gestacionais importantes (BOWEN et al., 2000b).

Quando comparamos os níveis séricos maternos com as amostras dos recém-nascidos, colhidas de sangue do cordão umbilical, das proteínas de fase aguda verifica-se claramente que não ocorre transferência transplacentária de PCR e SAA, sendo as concentrações dos recém-nascidos estatisticamente mais baixas (FIGURA 9). Esse fato poderia ser um forte indício da utilidade destas proteínas como marcadores de condições patológicas para o recém-nascido. A SAA poderia ser mais específica e sensível para a detecção de alterações neonatais, apesar de haverem poucas informações sobre sua aplicação nestas condições, uma vez que valores alterados podem ser frequentemente encontrados em associação com valores normais de PCR (ARNON et al., 2002; PIZZINI et al., 2000).

Os resultados das comparações entre mãe e recém-nascido podem indicar uma possível independência da produção fetal para as

citocinas (TNF- α , IL-1 β e IL-8), apesar dos níveis séricos materno e fetal serem próximos, foram verificadas algumas diferenças estatísticas entre as concentrações séricas maternas e fetais. Estudos indicam que crianças expostas a líquido amniótico com altas concentrações de TNF- α apresentam alta taxa de alterações neonatais, com casos de natimorto e morte neonatal, bem como alterações multi-sistêmicas importantes (HITTI et al., 2001). Durante a vida fetal, citocinas podem regular a hematopoiese, modulando a defesa do organismo contra infecções, protegendo o feto contra a rejeição materna e atuando como fatores de crescimento extra-hematopoiéticos. Os recém-nascidos dependem da imunidade natural (inata), que inclui fagocitose (monócitos, macrófagos teciduais e neutrófilos), células "natural killer" (NK) e mediadores humorais (PCR, complemento e anticorpos maternos adquiridos através da passagem placentária) durante seus primeiros dias de vida (NESIN & CUNNINGHAM-RUNDLES, 2000).

Finalmente, durante as determinações deste estudo houve um único caso de sofrimento fetal, onde foram observadas alterações nas concentrações séricas maternas e fetais de PCR, SAA, TNF- α , IL-1 β e IL-8 (FIGURA 11). Houve um acentuado aumento de IL-8 (TABELA 15 do APÊNDICE DE TABELAS), que poderia estar representando a gravidade das condições fetais durante o trabalho de parto, uma vez que as citocinas podem ser relacionadas com condições patológicas. Com certeza poucas conclusões podem ser obtidas de um único caso, mas isto só nos traz à memória o quanto os processos do parto e inflamação ainda precisam ser melhor compreendidos.

9. CONCLUSÕES

1. Foram encontrados aumentos de proteínas de fase aguda durante o período pós-parto, confirmando a presença de uma resposta inflamatória no parto.
2. Não houve diferença entre parto normal e parto por cesárea.
3. Não houve correlação entre as concentrações séricas de proteínas de fase aguda e citocinas.
4. As concentrações de citocinas permaneceram constantes ao longo dos períodos de coleta, indicando que a possível participação localizada em eventos no miométrio não poderia ser vista de forma sistêmica.
5. As diferenças entre as concentrações maternas e fetais podem ser indícios de que não ocorre transferência placentária de proteínas de fase aguda e de que ocorre produção fetal de citocinas.
6. Proteínas de fase aguda não são bons marcadores de alterações maternas pós-parto, podendo ser para alterações neonatais.

10. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ARNON, S.; LITMANOVITZ, I.; REGEV, R.; LIS, M.; SHAIKIN-KESTENBAUM, R.; DOLFIN, T. Serum amyloid A protein in the early detection of late-onset bacterial sepsis in preterm infants. **J. Perinat. Med.**, v.30, n.4, p.329-332, 2002.
- ARNTZEN, K.J.; KJOLLESDAL, A.M.; HALGUNSET, J.; VATTEN, L.; AUSTGULEN, R. TNF, IL-1, IL-6, IL-8 and soluble TNF receptors in relation to chorioamnionitis and premature labor. **J. Perinat. Med.**, v.26, n.1, p.17-26, 1998.
- BADOLATO, R.; WANG, J.M.; MURPHY, W.J.; LLOYD, A.R.; MICHIEL, D.F.; BAUSSERMAN, L.L.; KELVIN, D.J.; OPPENHEIM, J.J. Serum amyloid A is a chemoattractant: induction of migration, adhesion, and tissue infiltration of monocytes and polymorphonuclear leukocytes. **J. Exp. Med.**, v.180, n.1, p.203-209, 1994.
- BARCLAY, C.G.; BRENNAND, J.E.; KELLY, R.W.; CALDER, A.A. Interleukin-8 production by human cervix. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v.169, n.3, p.625-632, 1993.
- BAUMANN, H.; GAUDIE, J. The acute phase response. **Immunol. Today**, v.15, n.2, p.74-80, 1994.
- BOWEN, J.M.; CHAMLEY, L.; KEELAN, J.A.; MITCHELL, M.D. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: roles and regulation during human pregnancy and parturition. **Placenta**, v.23, n.4, p.257-273, 2002a.

- BOWEN, J.M.; CHAMLEY, L.; MITCHELL, M.D.; KEELAN, J.A. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: biosynthesis, secretion and roles in establishment of pregnancy in women. **Placenta**, v.23, n.4, p.239-256, 2002b.
- BRINCKERHOFF, C.E.; MITCHELL, T.I.; KARMILOWICZ, M.J.; KLUVE-BECKERMAN, B.; BENSON, M.D. Autocrine induction of collagenase by serum amyloid A-like and β_2 -microglobulin-like proteins. **Science**, v.243, n.4891, p.655-657, 1989.
- BUONOCORE, G.; DE FILLIPO, M.; GIOIA, D.; PICCIOLINI, E.; LUZZI, E.; BOCCI, V.; BRACCI, R. Maternal and neonatal plasma cytokine levels in relation to mode of delivery. **Biol. Neonate**, v.68, n.2, p.104-110, 1995.
- CASSATELLA, M.A. The production of cytokines by polymorphonuclear neutrophils. **Immunol. Today**, v.16, n.1, p.21-26, 1995.
- CUNNINGHAM, F.G.; GANT, N.F.; LEVENO, K.J.; GILSTRAP III, L.C.; HAUTH, J.C.; WENSTROM, K.D. Parturition. In: _____. **Williams Obstetrics**. Nova Iorque: McGraw Hill, 2001. cap.11, p.251-290.
- DE MEEUS, J.B.; POURRAT, O.; GOMBERT, J.; MAGNIN, G. C-reactive protein levels at the onset of labour and at day 3 post-partum in normal pregnancy. **Clin. Exp. Obst. Gyn.**, v.25, n.1-2, p.9-11, 1998.
- de VILLIERS, W.J.; LOUW, J.P.; STRACHAN, A.F.; ETSEBETH, S.M.; SHEPHARD, E.G.; de BEER, F.C. C-reactive protein and serum amyloid A protein in pregnancy and labour. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, v.97, n.8, p.725-730, 1990.

- DESLASCIO, D.; GUARIENTO, A. Conceito de prenhez: nomenclatura. In: _____. **Obstetrícia Normal Briquet**. São Paulo: Sarvier, 1987a. cap.3, p.35-37.
- DESLASCIO, D.; GUARIENTO, A. Contração uterina. In: _____. **Obstetrícia Normal Briquet**. São Paulo: Sarvier, 1987b. cap.17, p.299-308.
- DINARELLO, C.A. The acute-phase response. In: CECIL R.L. **Cecil Textbook of Medicine**. Filadélfia: Saunders, 1996. cap.313, p.1567-1569.
- DIZON-TOWNSON, D.; KENNETH, W. The genetics of labor. **Clin. Obstet. Gynecol.**, v.40, n.3, p.479-484, 1997.
- DU CLOS, T.W.; MOLD, C. The role of c-reactive protein in the resolution of bacterial infection. **Curr. Opin. Infect. Dis.**, v.14, n.3, p.289-293, 2001.
- DUBOIS, D.Y.; MALMENDIER, C.L. Non-competitive enzyme-linked immunosorbent assay for human apolipoprotein SAA or S. **J. Immunol. Methods**, v.112, n.1, p.71-75, 1988.
- FURLANETO, C.J.; CAMPA, A. A novel function of serum amyloid A: a potent stimulus for the release of tumor necrosis factor- α , interleukin- 1β , and interleukin-8 by human blood neutrophil. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v.268, n.2, p.405-408, 2000.
- GOLDSBY, R.A.; KINDT, T.J.; OSBORNE, B.A. Cells and organs of the immune system. In: _____. **Kuby Immunology**. Nova Iorque: W.H. Freeman and Company, 2000a. cap.2, p.27-59.

- GOLDSBY, R.A.; KINDT, T.J.; OSBORNE, B.A. Cytokines. In: _____. **Kuby Immunology**. Nova Iorque: W.H. Freeman and Company, 2000b. cap.12, p.303-327.
- HANSEN, W.R.; KEELAN, J.A.; SKINNER, S.J.M.; MITCHELL, M.D. Key enzymes of prostaglandin biosynthesis and metabolism. Coordinate regulation of expression by cytokines in gestational tissues: a review. **Prostaglandins Other Lipid Mediat.**, v.57, n.4, p.243-257, 1999.
- HATANAKA, E.; RIBEIRO, F.P.; CAMPA, A. Serum amyloid A primes neutrophils. **Submetido**.
- HITTI, J.; TARCZY-HORNOCH, P.; MURPHY, J.; HILLIER, S.L.; AURA, J.; ESCHENBACH, D.A. Amniotic fluid infection, cytokines, and adverse outcome among infants at 34 weeks' gestation or less. **Obstet. Gynecol.**, v.98, n.6, p.1080-1088, 2001.
- ISMAIL, M.A.; ZINAMAN, M.J.; LOWENSOHN, R.I.; MOAWAD, A.H. The significance of C-reactive protein levels in woman with premature rupture of membranes. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v.151, n.4, p.541-544, 1985.
- JUNQUEIRA, L.C.; ZUGAIB, M.; MONTES, G.S.; TOLEDO, O.M.; KRISZTAN, R.M.; SHIGIHARA, K.M. Morphologic and histochemical evidence for the occurrence of collagenolysis and for the role of neutrophilic polymorphonuclear leukocytes during cervical dilation. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v.138, n.3, p.273-281, 1980.
- KEELAN, J.A.; COLEMAN, M.; MITCHELL, M.D. The molecular mechanisms of term and preterm labor: recent progress and clinical implications. **Clin. Obstet. Gynecol.**, v.40, n.3, p.460-478, 1997.

- KEELAN, J.A.; MARVIN, K.W.; SATO, T.A.; COLEMAN, M.; McCOWAN, L.M.E.; MITCHELL, M.D. Cytokine abundance in placental tissues: evidence of inflammatory activation in gestational membranes with term and preterm parturition. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v.181, n.6, p.1530-1536, 1999.
- KELLY, R.W. Inflammatory mediators and parturition. **Rev. Reprod.**, v.1, n.2, p.89-96, 1996.
- KELLY, R.W.; ILLINGWORTH, P.; BALDIE, G.; LEASK, R.; BROUWER, S.; CALDER, A. Progesterone control of interleukin-8 production in endometrium and chorio-decidual cells underlines the role of the neutrophil in menstruation and parturition. **Hum. Reprod.**, v.9, n.2, p.253-258, 1994.
- KNISS, D.A.; IAMS, J.D. Regulation of parturition update: endocrine and paracrine effectors of term and preterm labor. **Clin. Perinatol.**, v.25, n.4, p.819-836, 1998.
- KRUSE, N.; GREIF, M.; MORIABADI, L.; MARX, L.; TOYKA, K.V.; RIECKMANN, P. Variations in cytokine mRNA expression during normal human pregnancy. **Clin. Exp. Immunol.**, v.199, n.2, p.317-322, 2000.
- LAHAM, N.; BRENNECKE, S.P.; BENDTZEN, K.; RICE, G.E. Tumor necrosis factor α during pregnancy and labour: maternal plasma and amniotic fluid concentrations and release from intrauterine tissues. **Eur. J. Endocrinol.**, v.131, n.6, p.607-614, 1994.
- LAHAM, N.; BRENNECKE, S.P.; RICE, G.E. Interleukin-8 release from human gestational tissue explants: the effects of lipopolysaccharide and cytokines. **Biol. Reprod.**, v.57, n.3, p.616-620, 1997.
-

- MAYMON, E.; GHEZZI, F.; EDWIN, S.S.; MAZOR, M.; YOON, B.H.;
GOMEZ, R.; ROMERO, R. The tumor necrosis factor α and its soluble
receptor profile in term and preterm parturition. **Am. J. Obstet.
Gynecol.**, v.181, n.5 (Pt.1), p.1142-1148, 1999.
- NAKAYAMA, T.; SONODA, S.; URANO, T.; YAMADA, T.; OKADA, M.
Monitoring both serum amyloid protein A and C-reactive protein in
inflammatory markers in infectious diseases. **Clin. Chem.**, v.39, n.2,
p.293-297, 1993.
- NESIN, M.; CUNNINGHAM-RUNDLES, S. Cytokines and neonates. **Am. J.
Perinatol.**, v.17, n.8, p.393-404, 2000.
- OLSON, D.M.; MIJOVIC, J.E.; SADOWSKY, D.W. Control of human
parturition. **Semin. Perinatol.**, v.19, n.1, p.52-63, 1995.
- OPSJLN, SL.; WATHEN, N.C.; TINGULSTAD, S.; WIEDSWANG, G.;
SUNDAN, A.; WAAGE, A.; AUSTGULEN, R. Tumor necrosis factor,
interleukin-1, and interleukin-6 in normal human pregnancy. **Am. J.
Obstet. Gynecol.**, v.169, n.2 (Pt.1), p.397-404, 1993.
- OSMERS, R.G.W.; BLASER, J.; KUHN, W.; TSCHESCHE, H. Interleukin-8
synthesis and the onset of labor. **Obstet. Gynecol.**, v.86, n.2, p.223-
229, 1995.
- PATEL, H.; FELLOWES, R.; COADE, S.; WOO, P. Human serum amyloid A
has cytokine-like properties. **Scand. J. Immunol.**, v.48, n.4, p.410-
418, 1998.

- PIZZINI, C.; MUSSAP, M.; PLEBANI, M.; FANOS, V. C-reactive protein and serum amyloid A protein in neonatal infections. **Scand. J. Infect. Dis.**, v.32, n.3, p.229-235, 2000.
- ROMEM, Y.; ARTAL, R. C-reactive protein in pregnancy and in the postpartum period. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v.151, n.3, p.380-383, 1985.
- ROMERO, R.; MAZOR, M.; SEPULVEDA, W.; AVILA, C.; COPELAND, D.; WILLIAMS, J. Tumor necrosis factor in preterm and term labor. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v.166, n.5, p.1576-1587, 1992.
- ROMERO, R.; SIRTORI, M.; OYARZUN, E.; AVILA, C.; MAZOR, M.; CALLAHAN, R.; SABO, V.; ATHANASSIADIS, A.P.; HOBBS, J.C. Infection and labor: prevalence, microbiology, and clinical significance of intraamniotic infection in women with preterm labor and intact membranes. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v.161, n.3, p.817-824, 1989.
- SCAPINI, P.; LAPINET-VERA, J.A.; GASPERINI, S.; CALZETTI, F.; BAZZONI, F.; CASSATELLA, M.A. The neutrophil as a cellular source of chemokines. **Immunol. Rev.**, v.177, p.195-203, 2000.
- SENTURK, L.M.; SOZEN, I.; GUTIERREZ, L.; ARICI, A. Interleukin 8 production and interleukin 8 receptor expression in human myometrium and leiomyoma. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v.184, n.4, p.559-566, 2001.
- SHEERAN, P.; HALL, G.M. Cytokines in anaesthesia. **Br. J. Anaesth.**, v.78, n.2, p.201-219, 1997.
- STALLMACH, T.; HEBISCH, G.; JOLLER, H.; KOLDITZ, P.; ENGELMANN, M. Expression pattern of cytokines in the different compartments of the

feto-maternal unit under various conditions. **Reprod. Fertil. Dev.**, v.7, n.6, p.1573-1580, 1995.

TIETZ, N W. **Clinical guide to laboratory tests**. Filadélfia: Saunders, 1995. p.50-51, 178-181.

UHLAR, C.M.; WHITEHEAD, A.S. Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. **Eur. J. Biochem.**, v.265, n.2, p.501-523, 1999.

URIELI-SHOVAL, S.; LINKE, R.P.; MATZNER, Y. Expression and function of serum amyloid A, a major acute-phase protein, in normal and disease states. **Curr. Opin. Hematol.**, v.7, n.1, p.64-69, 2000.

VASSILIADIS, S.; RANELLA, A.; PAPADMITRIOU, L.; MAKRYGIANNAKIS, A.; ATHANASSAKIS, I. Serum levels of pro- and anti-inflammatory cytokines in non-pregnant women, during pregnancy, labour and abortion. **Mediators Inflamm.**, v.7, n.2, p. 69-72, 1998.

VOLANAKIS, J.E. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. **Mol. Immunol.**, v.38, n.2-3, p.189-197, 2001.

WATTS, D.H.; KROHN, M.A.; WENER, M.H.; ESCHENBACH, D.A. C-reactive protein in normal pregnancy. **Obstet. Gynecol.** v.77, n.2, p.176-180, 1991.

WEETMAN, A.P. The immunology of pregnancy. **Thyroid**, v.9, n.7, p.643-646, 1999.

XU, L.; BADOLATO, R.; MURPHY, W.J.; LONGO, D.L.; ANVER, M.; HALE, S.; OPPENHEIM, J.J.; WANG, J.M. A novel biologic function of serum amyloid A: induction of T lymphocyte migration and adhesion. **J. Immunol.**, v.155, n.3, p.1184-1190, 1995.

ANEXO I

São Paulo, _____ de _____ de 20__.

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Eu, _____
RG nº _____, declaro que após
convenientemente esclarecido e tendo entendido o que me foi
explicado, consinto em participar do protocolo de pesquisa
“Amilóide sérica A, proteína C reativa e citocinas em gestantes
e parturientes”. Tendo sido devidamente esclarecido que tal
participação não apresenta dano à saúde e podendo retirar o
consentimento a qualquer momento, sem que isto traga prejuízo
a continuidade de assistência.

Assinatura da Paciente ou Responsável Legal

Luciane Marzzullo Cicarelli
Farmacêutica do Serviço de Laboratório Clínico
Hospital Universitário da Universidade de São Paulo
Telefone: 3818-7770 (das 13 às 19 horas)

ANEXO II

**IDENTIFICAÇÃO DAS PACIENTES DO PROJETO DE
PESQUISA: Amilóide Sérica A, Proteína C Reativa e Citocinas em
Gestantes e Parturientes (TRABALHO DE CITOCINAS)**

NOME: _____
 Endereço: _____ Telefone: _____
 Atendimento HU nº: _____ Cor: _____ Data de Nasc: _____
 Estado civil: () casada () solteira () viúva () amasiada

Exame físico: Peso: _____ Altura: _____ Pressão arterial: _____ Freq. cardíaca: _____
 Alterações: _____

Antecedentes pessoais:

Hipertensão Arterial Sistêmica: sim não - tempo/medicação: _____
 Diabetes Mellitus: sim não - tempo/medicação: _____
 Cardiopatia sim não - tempo/medicação: _____
 Tabagismo: nunca fumou parou fuma - tempo: _____
 Outras patologias: _____

Dados laboratoriais: _____

Paridade: _____ G _____ P _____ A
 DUM: _____ I^oUSG: _____ IG: _____ IG DEF: _____
 Horas em TP: _____ Duração da RPMO: _____
 Tipo de Parto: () normal () fórcepe () cesária/indicação: _____
 Analgesia do Parto: _____

Intercorrências Clínicas: _____

Intercorrências Obstétricas: _____

Sinais de Sofrimento Fetal Intra-Parto: _____

Dados do Recém-Nascido: Sexo: () M () F Peso: _____ Altura: _____
 Apgar: _____ Capurro: _____
 Intercorrências Neonatais: _____

APÊNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Dados clínicos das pacientes do grupo parto cesárea:

	Idade (anos)	Idade Gestacional Definitiva	Horas em Trabalho de Parto	Rotura de Membranas	Paridade	Indicação de Cesárea
1	35	38sem	12h	50min	3G 1P 1A	Sofrimento fetal intraparto
2	32	39 ^{3/7} sem	7h 40min	NO	5G 4P 0A	Sofrimento fetal intraparto
3	17	39 ^{4/7} sem	10h 21min	4h	1G 0P 0A	Distocia funcional
4	22	39 ^{6/7} sem	12h 38min	48min	1G 0P 0A	Sofrimento fetal intraparto
5	26	39sem	18h	50min	2G 1P 0A	Distocia funcional
6	18	38 ^{1/7} sem	8h	–	1G 0P 0A	Distocia funcional
7	29	41 ^{5/7} sem	14h	2h	1G 0P 0A	Sofrimento fetal intraparto
8	29	40 ^{4/7} sem	3h	15min	1G 0P 0A	Sofrimento fetal intraparto
9	18	39 ^{4/7} sem	18h	18h	1G 0P 0A	Distocia funcional
10	21	41 ^{4/7} sem	4h	NO	2G 1P 0A	Distocia funcional
11	26	39 ^{1/7} sem	7h	NO	2G 1P 0A	Sofrimento fetal intraparto
12	37	41 ^{1/7} sem	7h	8h	3G 1P 1A	Distocia funcional

sem: semanas h: horas min: minutos G: gestações P: partos A: abortos NO: não ocorreu

Tabela 2: Dados clínicos das pacientes do grupo parto normal:

	Idade (anos)	Idade Gestacional Definitiva	Horas em Trabalho de Parto	Rotura de Membranas	Paridade
13	27	40 ^{1/7} sem	16h	2h	2G 1P 0A
14	19	39 ^{3/7} sem	8h 40min	4h 20min	1G 0P 0A
15	17	39 ^{6/7} sem	7h 11min	1h 30min	1G 0P 0A
16	20	41 ^{1/7} sem	9h 41min	1h	1G 0P 0A
17	19	38 ^{4/7} sem	7h	2h	1G 0P 0A
18	22	38 ^{4/7} sem	6h 5min	20min	2G 1P 0A
19	20	38sem	11h 32min	1h	3G 2P 0A
20	19	40sem	14h 55min	55min	3G 1P 1A
21	18	39 ^{1/7} sem	12h 39min	1h 10min	1G 0P 0A
22	16	39 ^{3/7} sem	7h 28min	–	2G 1P 0A
23	22	40 ^{5/7} sem	12h 16min	1h 21min	3G 1P 1A
24	30	39 ^{4/7} sem	18h 30min	4h	1G 0P 0A

sem: semanas h: horas min: minutos G: gestações P: partos A: abortos

Tabela 3: Dados clínicos dos recém-nascidos do grupo parto cesárea:

	Sexo	Peso (gramas)	Apgar ³	Capurro ⁴
1	Masculino	2830	8 9 10	38 sem
2	Masculino	2280	8 9 9	38 2/7 sem
3	Feminino	3050	8 9 9	39 sem
4	Feminino	3065	8 9 9	39 6/7 sem
5	Feminino	2850	9 10 10	37 5/7 sem
6	Feminino	3405	9 10 10	39 2/7 sem
7	Feminino	3405	8 10 10	41 6/7 sem
8	Masculino	3310	3 9 10	38 2/7 sem
9	Feminino	3150	8 9 10	38 6/7 sem
10	Masculino	3950	8 9 9	39 5/7 sem
11	Feminino	3630	6 9 10	40 3/7 sem
12	Masculino	3905	9 10 10	40 3/7 sem

sem: semanas

³ *Apgar*: escala de vitalidade neonatal medida imediatamente após o nascimento, nos momentos de 1, 5 e 10 minutos.

⁴ *Capurro*: escala que determina a idade gestacional com base em dados do recém-nascido

Tabela 4: Dados clínicos dos recém-nascidos do grupo parto normal:

	Sexo	Peso (gramas)	Apgar	Capurro
13	Feminino	2995	9 10 10	40 ^{1/1} sem
14	Feminino	3440	8 9 10	39 ^{3/1} sem
15	Masculino	3390	9 10 10	38 ^{2/1} sem
16	Masculino	3530	6 9 10	40 ^{3/1} sem
17	Feminino	3155	8 9 9	38 ^{4/1} sem
18	Feminino	3300	9 9 9	38 ^{4/1} sem
19	Masculino	2865	9 10 10	38sem
20	Feminino	3590	8 8 9	38sem
21	Masculino	3220	9 10 10	40 ^{2/1} sem
22	Feminino	3145	9 9 10	37 ^{1/1} sem
23	Masculino	3145	9 10 10	40 ^{3/1} sem
24	Feminino	2810	5 8 8	39 ^{2/1} sem

sem: semanas

Tabela 5: Resultados de proteínas de fase aguda e citocinas, para parto cesárea, no momento da internação:

	SAA ($\mu\text{g/mL}$)	PCR (mg/dL)	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)
1	6	1,06	0,89	0,56	3
2	31,3	4,25	4	1,4	5,8
3	3,61	0,274	5	0,31	3,1
4	5,15	0,406	2,6	0,74	2,5
5	9,47	2,58	2,5	1	8,1
6	4,51	0,208	4,6	0,44	2,8
7	3,87	0,282	5,3	0,56	4,5
8	382	8,54	2,4	0,37	3,8
9	2,22	1,1	4,6	0,68	3,8
10	4,57	0,599	1,1	0,72	2,7
11	5,9	1,92	5,7	0,86	14
12	7,18	0,277	2,9	0,78	7,8

Tabela 6: Resultados de proteínas de fase aguda e citocinas, para parto normal, no momento da internação:

	SAA ($\mu\text{g/mL}$)	PCR (mg/dL)	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)
13	7,5	0,788	11,9	5,3	4,1
14	9,26	0,648	0,05	1,2	5,7
15	6,27	0,526	6,5	0,57	54,9
16	5,95	0,95	1,5	1,7	2,1
17	5,31	0,674	3,1	0,7	3,8
18	4,57	0,274	0,52	0,76	1,1
19	5,15	0,528	Inferior a 4,00	2,1	3,1
20	3,55	0,221	1,5	1	6
21	20,4	1,65	7,2	1,4	6,5
22	5,15	0,098	5	0,65	4,2
23	6,38	1,03	3,5	0,33	2,1
24	5,31	0,202	4	0,31	2,9

Tabela 7: Resultados de proteínas de fase aguda e citocinas, para parto cesárea, no momento do parto:

	SAA ($\mu\text{g/mL}$)	PCR (mg/dL)	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)
1	21,5	1,4	2,8	0,76	8,8
2	27,9	2,93	4,7	1	3,4
3	3,87	0,346	3,4	0,15	4,6
4	6,11	0,551	1,6	0,91	5,8
5	15,3	2,59	1,9	1,7	22,4
6	4,67	0,168	4,6	0,51	2,4
7	2,54	0,517	7,2	0,7	7,2
8	5,85	1,27	3,5	0,34	1,9
9	7,98	1,78	3,5	0,69	2,9
10	6,27	0,503	1,7	0,41	2,7
11	5,84	1,68	6,2	0,32	4,1
12	40,7	1,248	4,8	1,1	15,2

Tabela 8: Resultados de proteínas de fase aguda e citocinas, para parto normal, no momento do parto:

	SAA ($\mu\text{g/mL}$)	PCR (mg/dL)	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)
13	8,5	0,865	12	6,7	3,9
14	26,2	2,44	Inferior a 4,00	1,7	8,8
15	8,83	0,614	4,1	0,72	56,8
16	24,1	0,91	4,7	1,6	3,4
17	9,47	0,97	2,5	0,73	9,6
18	5,31	0,265	1	1	0,54
19	5,31	0,547	2,5	0,95	2,7
20	3,87	0,248	2,8	0,87	16
21	36,4	2,09	8,8	1,1	5,2
22	4,67	0,109	5,7	0,64	5,3
23	2,86	1,19	8,4	0,2	4,7
24	13,8	0,908	4,6	0,64	9,8

Tabela 9: Resultados de proteínas de fase aguda e citocinas, para parto cesárea, 24 horas após o parto:

	SAA ($\mu\text{g/mL}$)	PCR (mg/dL)	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)
1	213	15,4	3	0,52	3,8
2	495	13,6	3,5	0,56	2,2
3	235	4,88	4,5	0,37	5,2
4	284	11,5	1,8	0,65	14,6
5	230	9,73	4,3	1	12
6	201	5,41	5,8	0,66	2,5
7	186	3,99	6,1	0,43	5,7
8	279	12,8	2,9	0,32	4,3
9	255	13,5	6,4	0,52	5
10	254	9,05	0,41	0,39	6,8
11	251	9,37	2,5	0,62	6,7
12	517	23,1	4,7	0,33	4,4

Tabela 10: Resultados de proteínas de fase aguda e citocinas, para parto normal, 24 horas após o parto:

	SAA ($\mu\text{g/mL}$)	PCR (mg/dL)	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)
13	222	3,95	11,9	4,3	14,3
14	299	11,4	3,5	0,5	5,4
15	235	2,89	2,6	0,44	37,7
16	233	5,6	2,6	1,8	34,3
17	261	6,96	3,5	0,81	3,9
18	255	2,87	3,8	0,73	3,9
19	190	2,4	7	0,74	6,3
20	191	3,32	4,9	0,88	23,8
21	198	12,1	14,4	1,5	221
22	208	2,23	6	0,74	5,7
23	235	6,35	6,1	0,34	3,6
24	235	9,69	5,4	0,27	28,4

Tabela 11: Resultados de proteínas de fase aguda e citocinas, para parto cesárea, 60 horas após o parto:

	SAA ($\mu\text{g/mL}$)	PCR (mg/dL)	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)
1	298	8,77	Inferior a 4,00	0,52	3,1
2	499	12,1	4,6	0,79	2,1
3	326	5,28	2,7	0,09	4,4
4	324	7,27	5,5	0,65	18,4
5	229	9,74	1,1	1,1	9,1
6	229	8,17	3,4	0,46	4,4
7	186	5,15	5,6	0,3	15,4
8	190	1,34	1,1	0,44	4,2
9	444	20,8	4	1,1	4,7
10	334	11,6	0,7	0,4	4,6
11	339	12	2,1	0,52	3,1
12	505	11,2	4,4	0,48	5,2

Tabela 12: Resultados de proteínas de fase aguda e citocinas, para parto normal, 60 horas após o parto:

	SAA ($\mu\text{g/mL}$)	PCR (mg/dL)	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)
13	216	2,11	9,4	3,8	6,5
14	203	2,79	3,6	0,35	4,2
15	235	1,2	4,1	0,32	29,1
16	245	6,13	1,2	1,4	3,1
17	327	4,05	2,6	1	2,6
18	239	2,68	0,24	0,47	4
19	170	1,14	4,2	0,05	7,9
20	178	2,81	2	0,93	4,8
21	264	3,76	9,1	0,98	7,4
22	191	0,535	8,4	0,52	8,4
23	201	2,86	5,1	0,23	3
24	213	3,77	3,3	0,63	209

Tabela 13: Resultados de proteínas de fase aguda e citocinas, para recém-nascidos em parto cesárea, no momento do parto:

	SAA ($\mu\text{g/mL}$)	PCR (mg/dL)	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)
1	0,148	0,065	6,7	0,31	11,8
2	0,75	0,122	5,1	1,8	142
3	0,092	0,059	7	0,35	17,1
4	0,135	0,066	5,3	0,19	6,4
5	0,188	0,076	4,6	0,62	26,4
6	0,084	0,004	8,4	0,29	3,7
7	0,228	0,006	7,5	0,65	17,5
8	0,146	0,013	10	0,39	11,3
9	0,243	0,009	6,5	0,21	3,8
10	0,203	0,004	7,8	0,32	8,9
11	0,064	0,006	6,9	0,21	7,3
12	0,552	0,153	8,1	4,3	359

Tabela 14: Resultados de proteínas de fase aguda e citocinas, para recém-nascidos em parto normal, no momento do parto:

	SAA ($\mu\text{g/mL}$)	PCR (mg/dL)	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)
13	0,187	0,064	21,5	9,2	6,4
14	0,337	0,064	6,3	0,21	6,8
15	0,13	0,059	6,3	0,03	53,8
16	0,135	0,063	24,1	3,7	13,5
17	0,129	0,061	7,5	0,62	17,4
18	0,137	0,058	5,9	0,03	3,5
19	0,248	0,058	5,1	0,05	12,8
20	0,112	0,062	6,6	0,35	27
21	0,102	0,007	7,5	0,2	10,2
22	0,146	0,003	7,9	0,28	6,7
23	0,441	0,005	4,8	0,64	3,2
24	0,243	0,027	10,8	1,1	22,3

Tabela 15: Resultados de um caso único de PC indicado por sofrimento fetal, cujos resultados encontrados para proteínas de fase aguda e citocinas não apresentaram o mesmo padrão obtido nas demais determinações:

	SAA ($\mu\text{g/mL}$)	PCR (mg/dL)	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)
MI	18,5	2,56	4,6	1,1	7,4
MP mãe	Superior a 100	7,63	4,9	3,1	30
RN	0,480	1,43	12,1	64,1	6.067
24 H	430	32,6	8,9	0,89	13,0
60 H	282	20,3	5,4	1,4	97,6

MI: momento de internação
60 H: 60 horas após o parto

MP: momento do parto
RN: recém-nascido

24 H: 24 horas após o parto

DADOS CLÍNICOS:

Idade materna: 25 anos

Idade gestacional definitiva: 39³⁷ semanas

Horas em trabalho de parto: 12 horas e 25 minutos

Rotura de membranas: 3 horas

Paridade: 2G 1P 0A

Indicação de cesárea: distocia funcional

Sexo do recém-nascido: masculino

Peso do recém-nascido: 3545g

Apgar: 3 8 9

Capurro: 39³⁷ semanas

Tabela 16: Resultados de amostras de soro de cordão umbilical para alguns casos semelhantes ao caso único de PC indicado por sofrimento fetal, cujos resultados encontrados para proteínas de fase aguda e citocinas apresentaram o mesmo padrão obtido nas demais determinações:

	SAA ($\mu\text{g/mL}$)	PCR (mg/dL)	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)
1	0,102	0,005	9,0	0,43	4,6
2	0,146	0,018	7,0	1,2	27,1
3	0,120	0,006	6,9	0,38	9,6
4	0,090	0,008	9,3	0,37	10,4
5	0,074	0,002	22,9	0,71	36,7

APÊNDICE DE FIGURAS

Proteína C Reativa

Figura 1: Perfis individuais para as determinações de PCR (mg/dL) nos diferentes períodos de coleta, para parto normal:

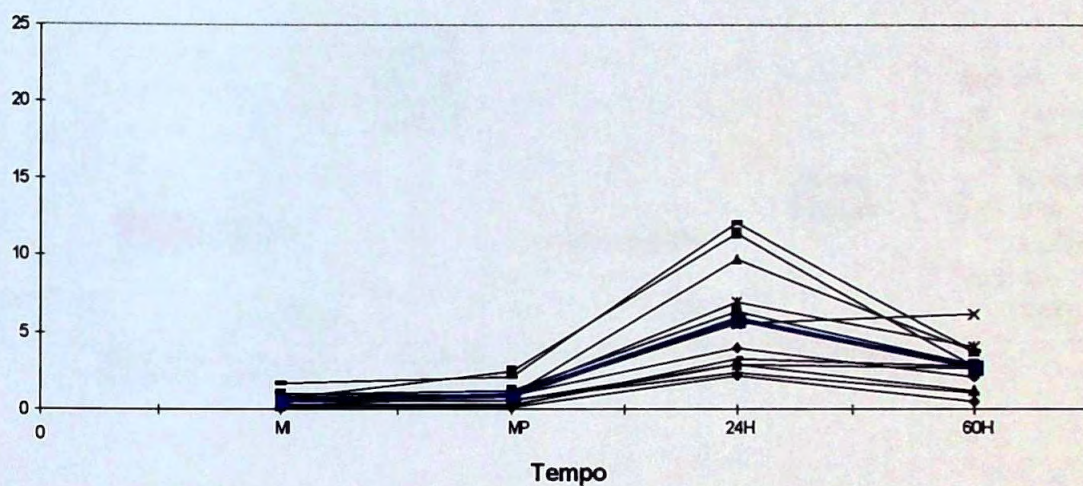


Figura 2: Perfis individuais para as determinações de PCR (mg/dL) nos diferentes períodos de coleta, para parto cesárea:

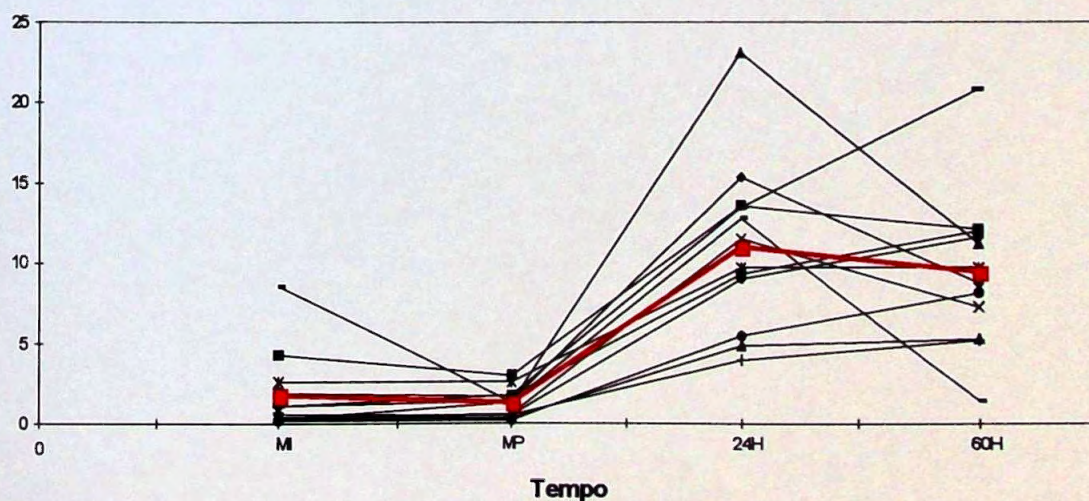
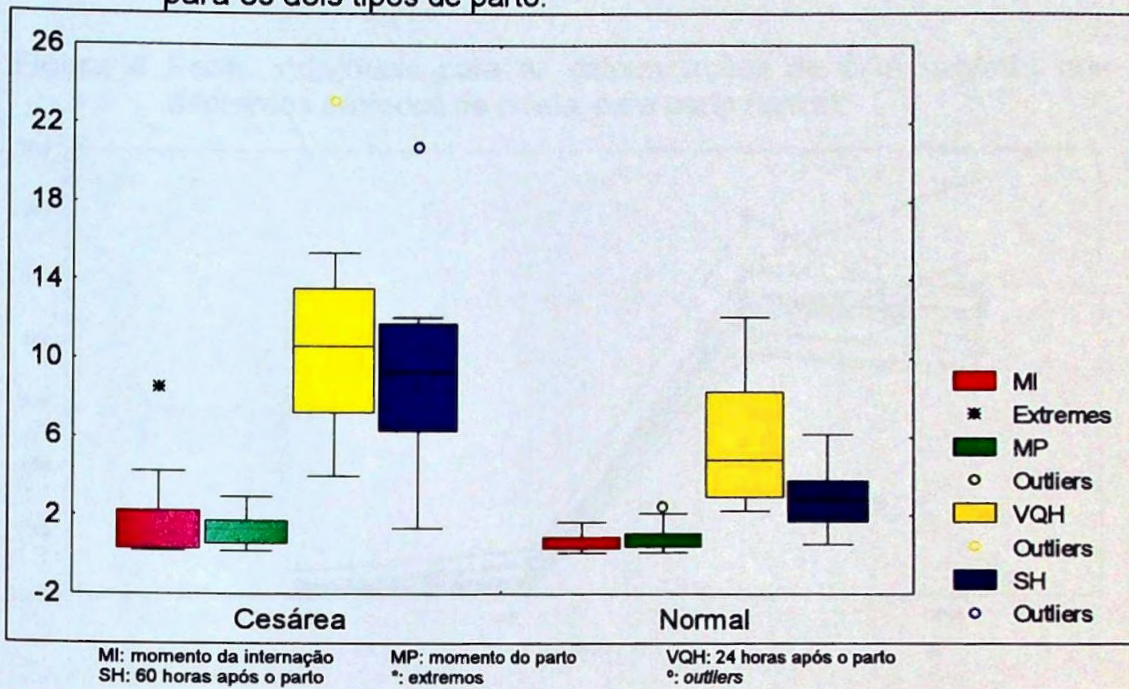


Figura 3: "Boxplot" para PCR (mg/dL) nos diferentes períodos de coleta, para os dois tipos de parto:



Amilóide Sérica A

Figura 4 Perfis individuais para as determinações de SAA ($\mu\text{g/mL}$) nos diferentes períodos de coleta, para parto normal:

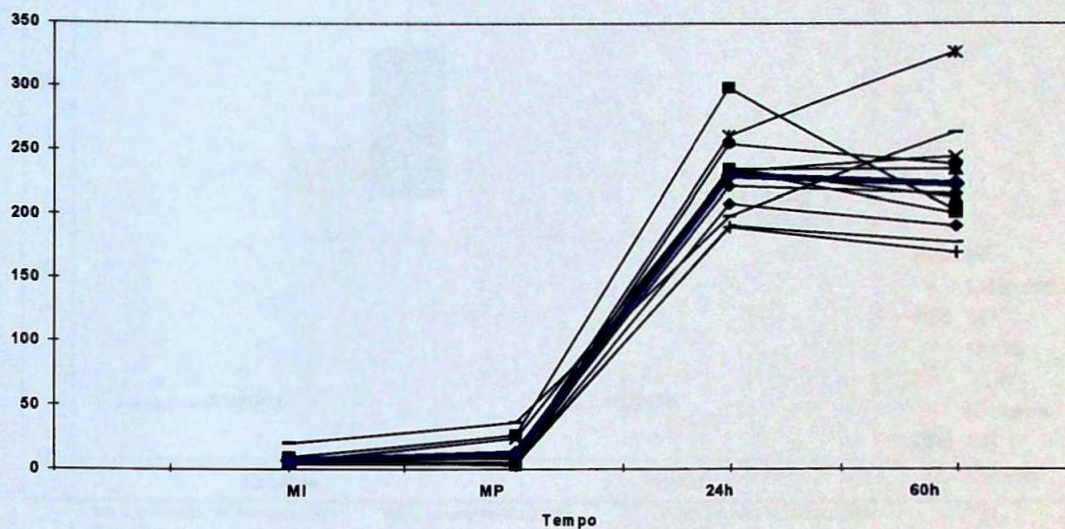


Figura 5: Perfis individuais para as determinações de SAA ($\mu\text{g/mL}$) nos diferentes períodos de coleta, para parto cesárea:

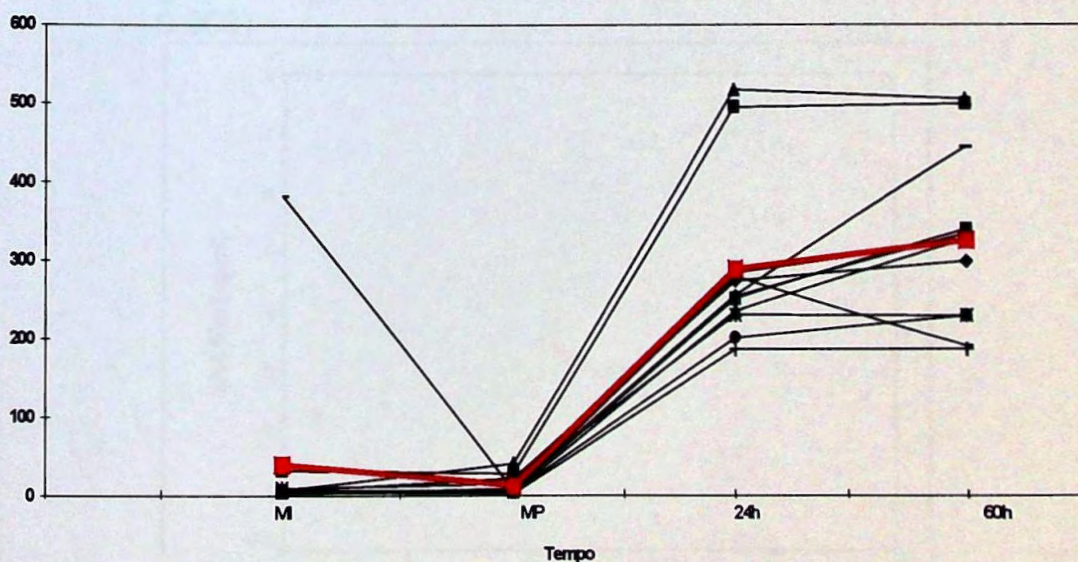


Figura 6: "Boxplot" para SAA ($\mu\text{g/mL}$) nos diferentes períodos de coleta, para os dois tipos de parto:

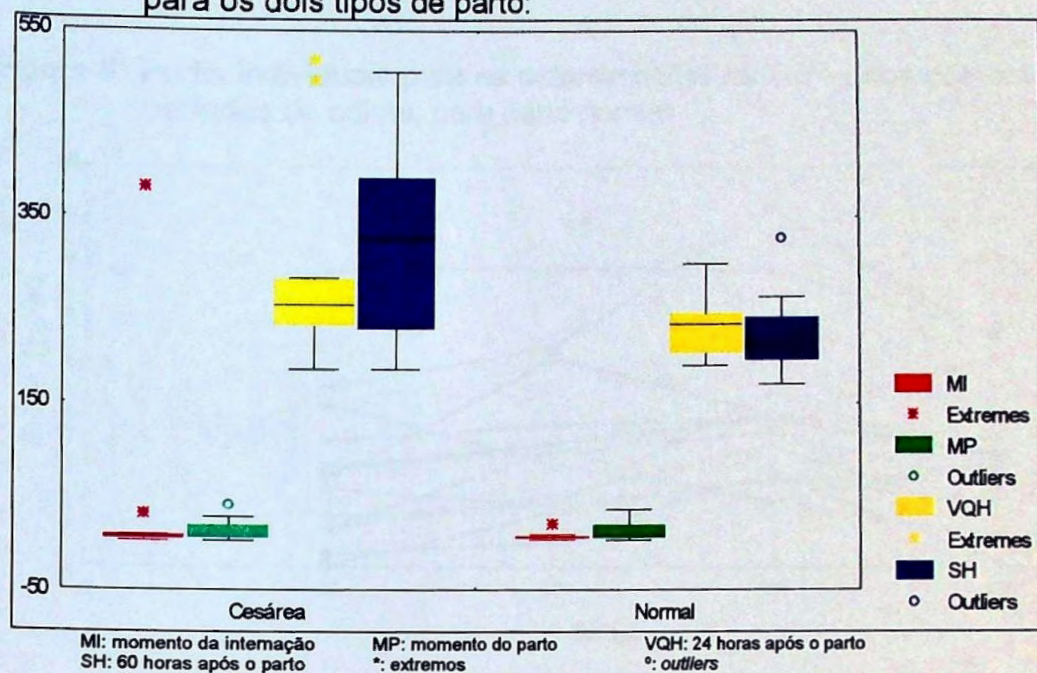
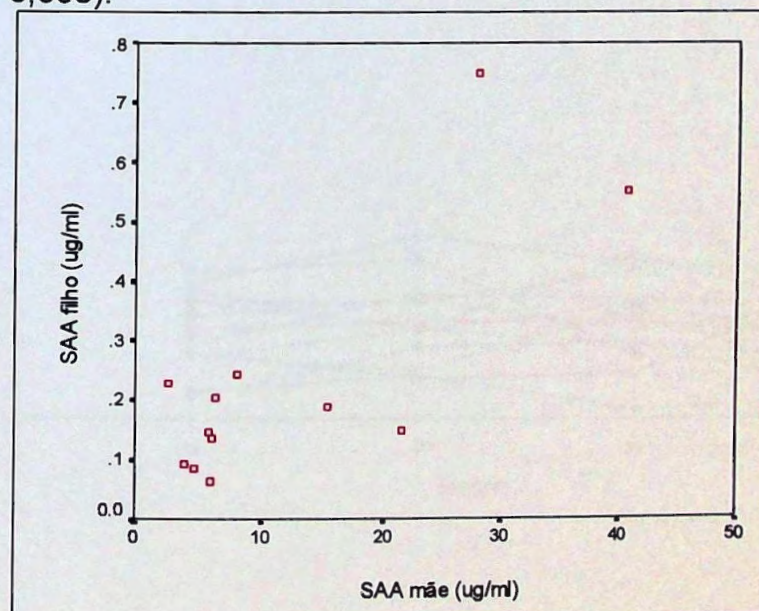


FIGURA 7: Gráfico de dispersão para SAA, relacionando resultados obtidos para o par mãe / recém-nascido no momento do parto, para o grupo de parto cesárea (estimativa da correlação = 0,781 e $p = 0,003$).



TNF- α

Figura 8: Perfis individuais para as determinações de TNF- α nos diferentes períodos de coleta, para parto normal:

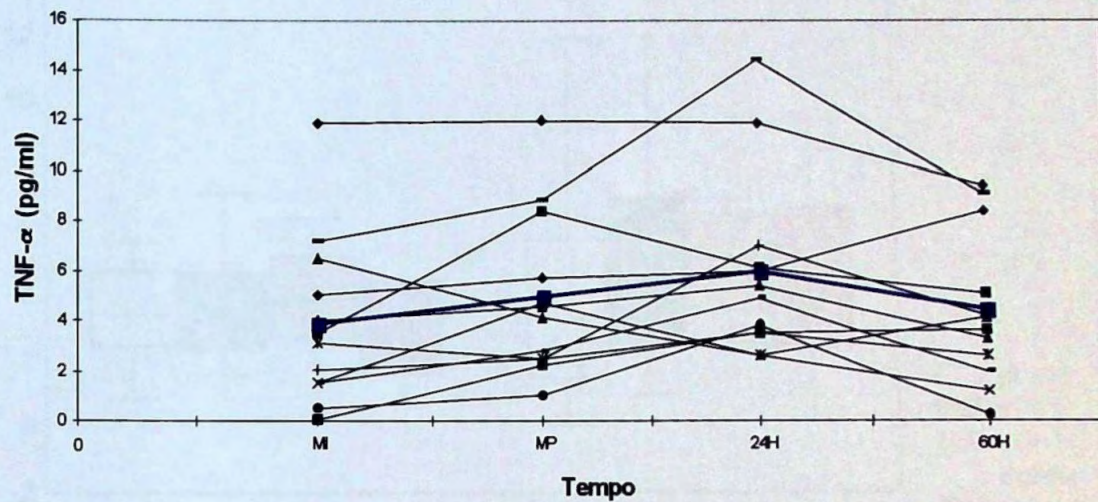


Figura 9: Perfis individuais para as determinações de TNF- α nos diferentes períodos de coleta, para parto cesárea:

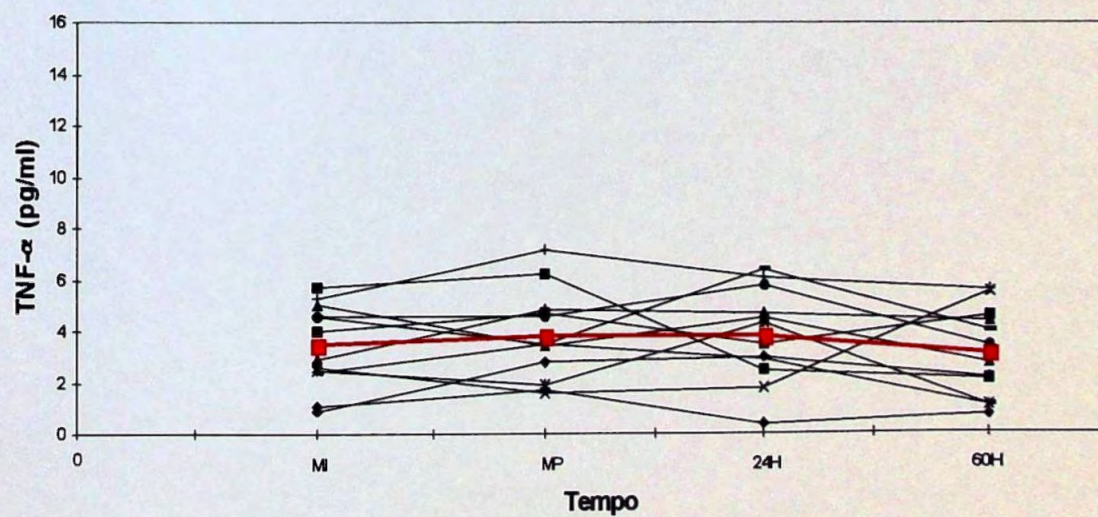
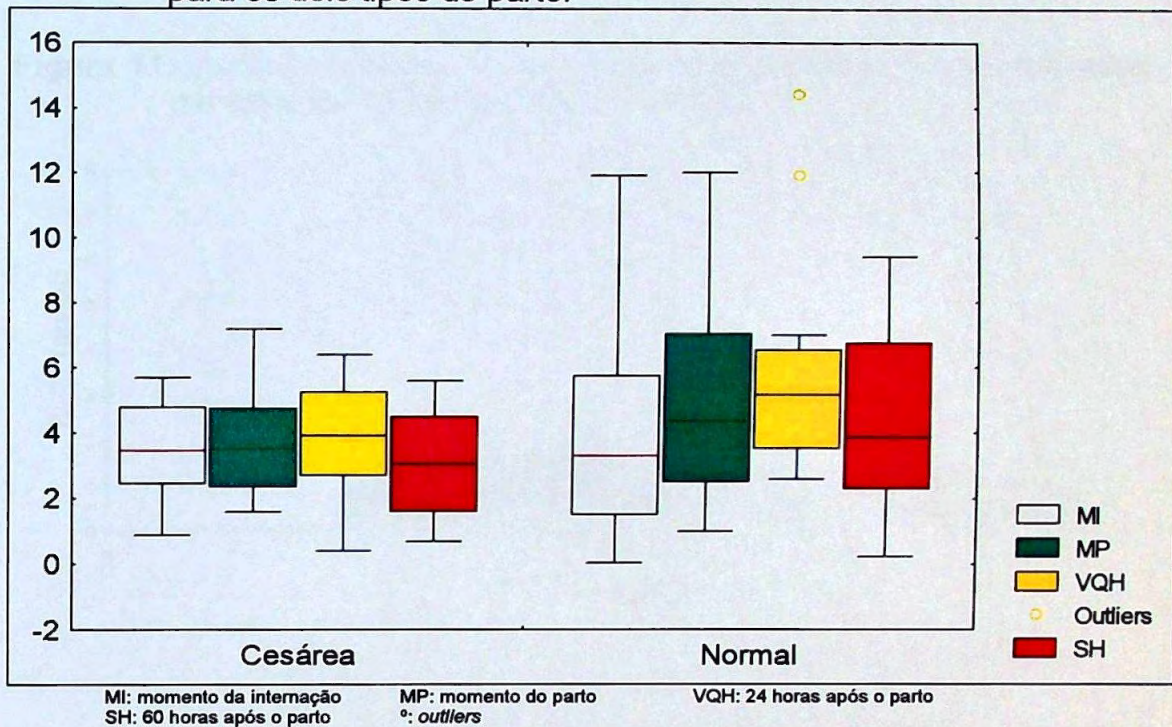


Figura 10: "Boxplot" para TNF- α (pg/mL) nos diferentes períodos de coleta, para os dois tipos de parto:



IL-1 β

Figura 11: Perfis individuais para as determinações de IL-1 β nos diferentes períodos de coleta, para parto normal:

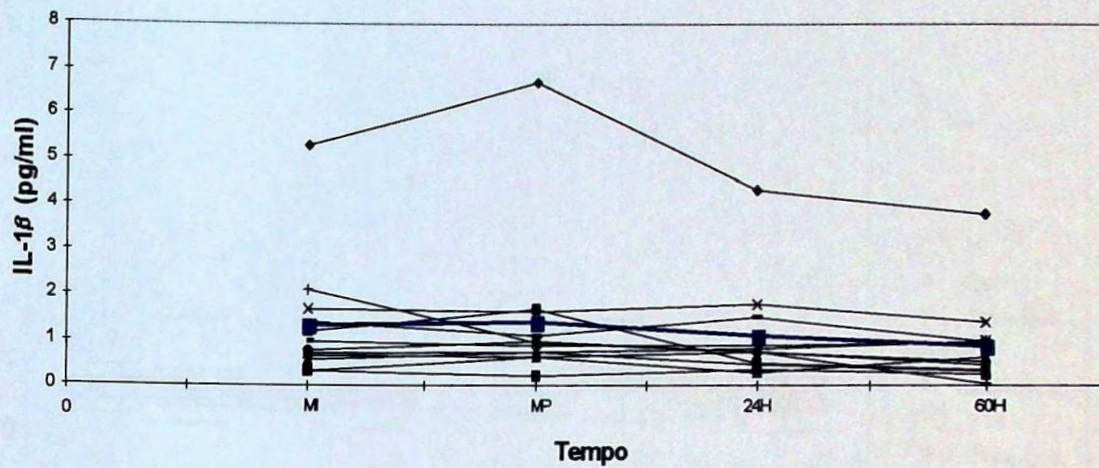


Figura 12: Perfis individuais para as determinações de IL-1 β nos diferentes períodos de coleta, para parto cesárea:

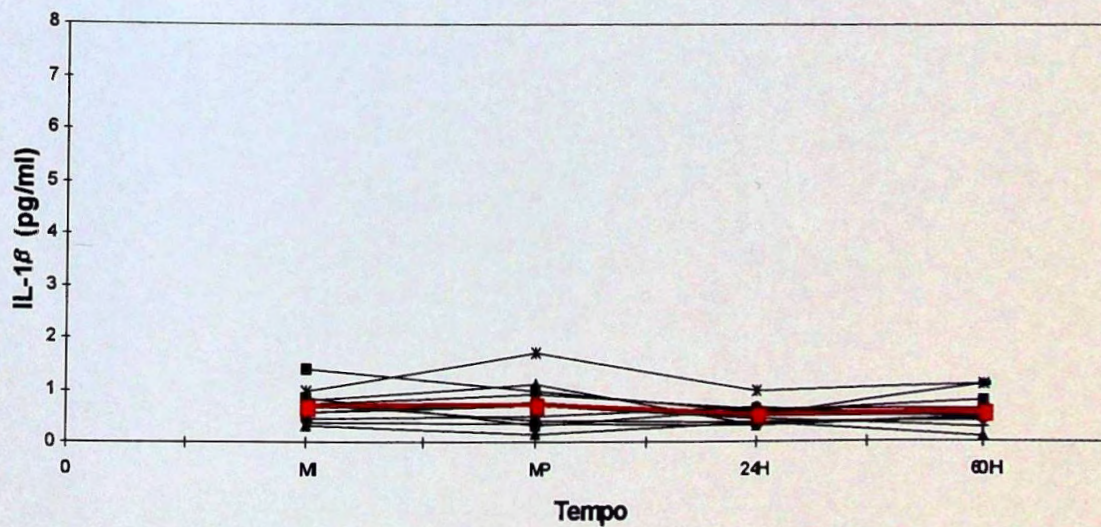
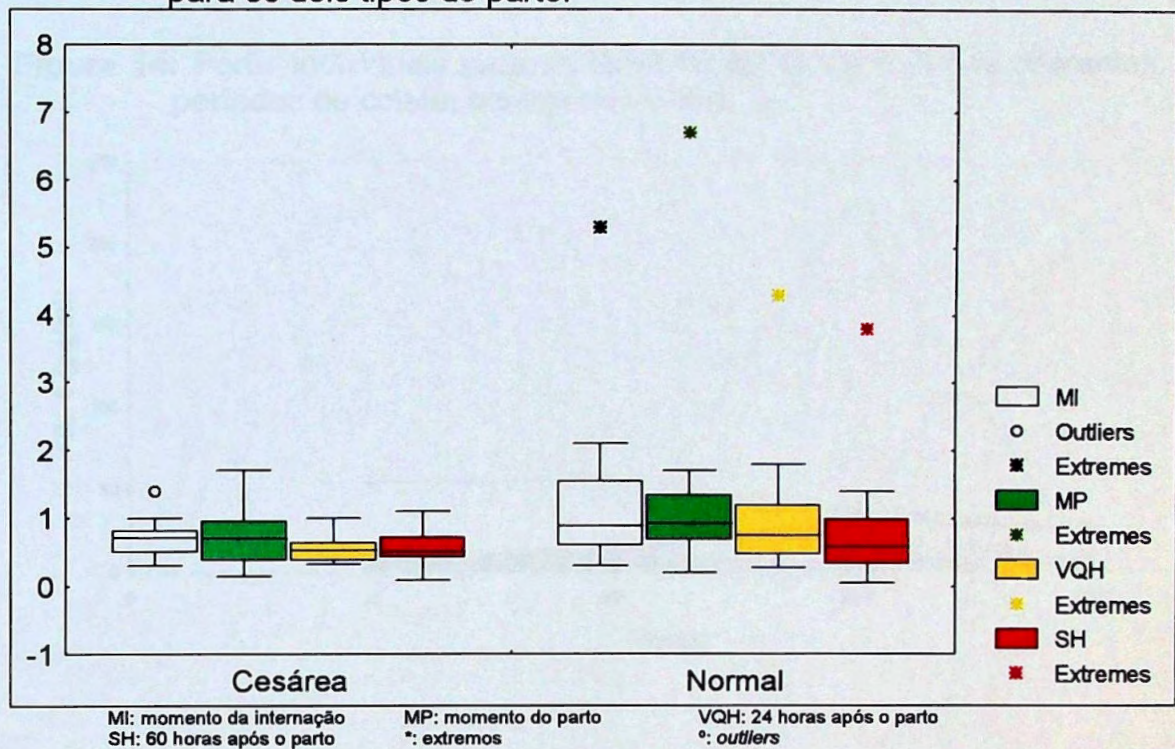


Figura 13: "Boxplot" para IL-1 β (pg/mL) nos diferentes períodos de coleta, para os dois tipos de parto:



IL-8

Figura 14: Perfis individuais para as determinações de IL-8 nos diferentes períodos de coleta, para parto normal:

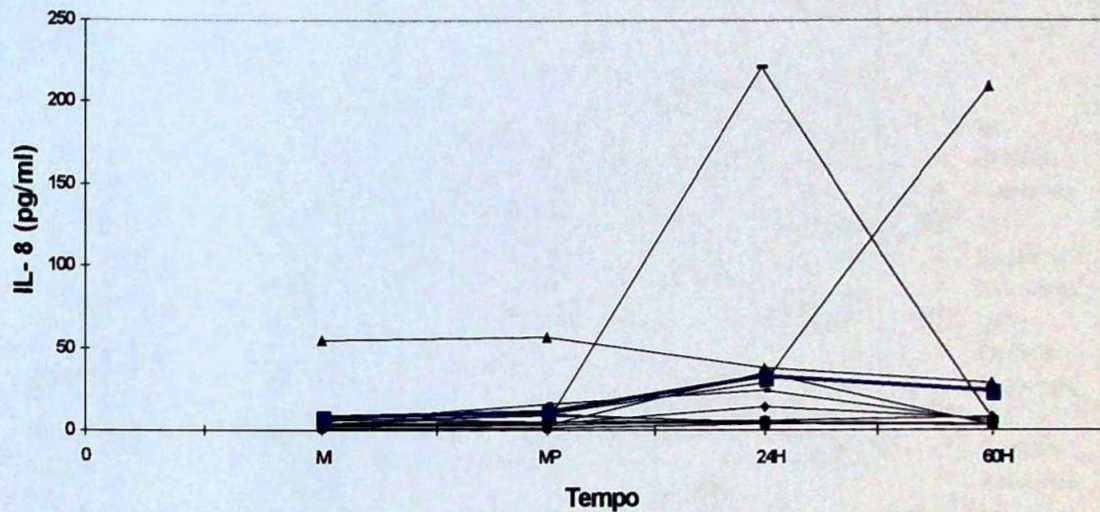


Figura 15: Perfis individuais para as determinações de IL-8 nos diferentes períodos de coleta, para parto cesárea:

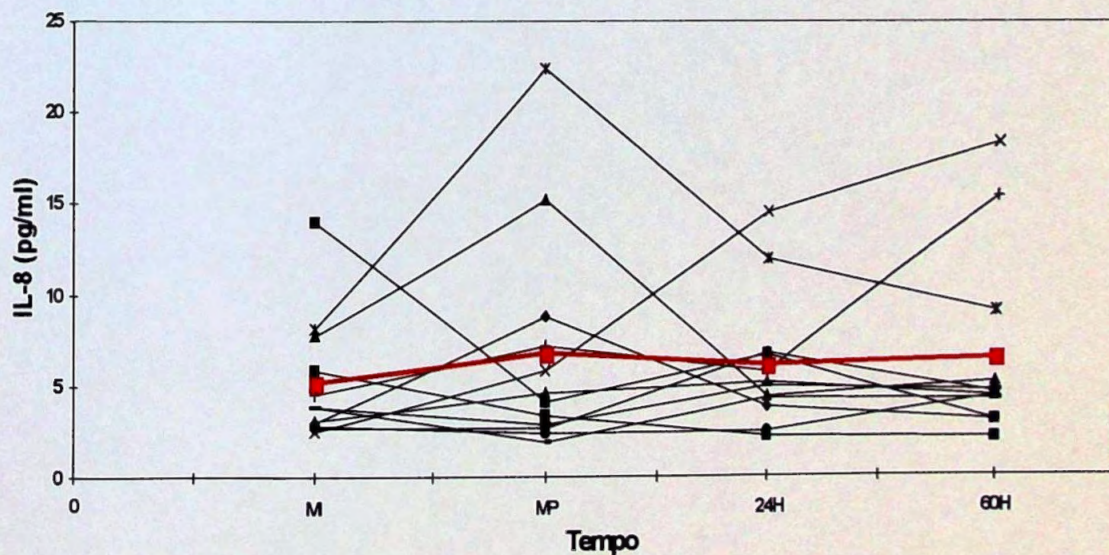


Figura 16: "Boxplot" para IL-8 (pg/mL) nos diferentes períodos de coleta, para os dois tipos de parto:

