

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA

TESE DE DOUTORADO

Concentração Placentária dos Peptídeos

Natriuréticos ANP e BNP:

*Associação entre a Concentração Placentária e os Parâmetros
Clínicos Maternos e Fetais em Gestações de Normotensas e de
Hipertensas*

GLÁUCIA APARECIDA DE MENEZES

BELO HORIZONTE
2002

Gláucia Aparecida de Menezes

***Concentração Placentária dos Peptídeos
Natriuréticos ANP e BNP:***

*Associação entre a Concentração Placentária e os Parâmetros
Clínicos Maternos e Fetais em Gestações de Normotensas e de
Hipertensas*

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ginecologia e Obstetrícia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito final para obtenção do grau de Doutor.

Orientador
Prof. Dr. Antônio Carlos Vieira Cabral
Universidade Federal de Minas Gerais

Co-orientadora
Profa. Dra. Adelina Martha dos Reis
Universidade Federal de Minas Gerais

M543c Menezes, Gláucia Aparecida de.
Concentração placentária dos peptídeos natriuréticos ANP e BNP [manuscrito]; associação entre a concentração placentária e os parâmetros clínicos maternos e fetais em gestações de normotensas e de hipertensas. / Gláucia Aparecida de Menezes. - - Belo Horizonte: 2002.
129f.: il.
Orientador: Antônio Carlos Vieira Cabral.
Co-orientadora: Adelina Martha dos Reis.
Área de concentração: Ginecologia e Obstetrícia.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Fator Natriurético Atrial. 2. Pré-Eclâmpsia. 3. Placenta. 4. Dissertações Acadêmicas. I. Cabral, Antônio Carlos Vieira. II. Reis, Adelina Martha dos. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WO 215



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 7009
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 248.9641 FAX: (31) 248.9939



DECLARAÇÃO

A Comissão Examinadora abaixo assinada, composta pelos Professores Doutores Antônio Carlos Vieira Cabral, Adelina Martha dos Reis, Zilma Nogueira Reis Vitral, Sinval Ferreira de Oliveira, Henrique Vitor Leite e Alamanda Kfoury Pereira aprovou a defesa da tese intitulada **“CONCENTRAÇÃO PLACENTÁRIA DOS PEPTÍDEOS NATRIURÉTICOS - ANP E BNP”** apresentada pela doutoranda **GLÁUCIA APARECIDA MENEZES** para obtenção do título de Doutor em Ginecologia e Obstetrícia, pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina - Área de Concentração em Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 13 de dezembro de 2002.


Prof. Antônio Carlos Vieira Cabral
Orientador


Profa. Adelina Martha dos Reis


Profa. Zilma Nogueira Reis Vitral


Prof. Sinval Ferreira de Oliveira


Prof. Henrique Vitor Leite


Profª. Alamanda Kfoury Pereira

*Dedico esta tese a uma consciência muito especial: minha mãe.
Transferida para outra dimensão em meio à fase de
conclusão deste trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos a todas as consciências que me ajudaram a concretizar este projeto.

Ao meu orientador Prof. Dr. Antônio Carlos Vieira Cabral pela oportunidade de estudo e pelo aprendizado obtido ao longo destes anos de convivência.

À Profa. Dra. Adelina Martha dos Reis pela paciência e disponibilidade com que fui atendida todas as vezes de que precisei.

À mestranda Juliana Silva Barra pelas dosagens dos peptídeos.

A todas as pessoas envolvidas na coleta de material, especialmente durante minha permanência na Alemanha, os meus sinceros agradecimentos.

À CAPES por ter acreditado no potencial deste grupo de pesquisa para participação em um projeto de Cooperação Internacional.

À minha amiga e sócia Karla Cavallieri Nacif Juliani pela oportunidade da convivência, amizade, lealdade, companheirismo e principalmente pelo zelo com que cuidou da nossa clínica de ultra-som, no período de minha ausência.

À minha amiga Adriane Costa pela ajuda na correção de português.

Ao grande amigo conquistado em Berlim, o estudante de doutorado, YANG-JAN, pela amizade, incentivo, carinho e, principalmente, por ensinar-me que,

na maioria das vezes, é possível manter-se calmo em meio às turbulências da vida.

A todos os membros da minha família que estiveram do meu lado, de forma incondicional, em todas as etapas de realização deste trabalho.

Enfim, os meus agradecimentos a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

"Pensamos demasiadamente
sentimos muito pouco.
Necessitamos mais de humildade
que de máquinas.
Mais de bondade e ternura
que de inteligência.
Sem isso,
a vida se tornará violenta e
tudo se perderá".

Charles Chaplin

SUMÁRIO

	LISTA DE ABREVIATURAS	
	LISTA DE FIGURAS	
	LISTA DE GRÁFICOS	
	LISTA DE TABELAS	
1	INTRODUÇÃO	18
2	LITERATURA	23
2.1	PEPTÍDEOS NATRIURÉTICOS.....	24
2.1.1	Generalidades	25
2.1.2	Bioquímica dos peptídeos natriuréticos e seus receptores.....	25
2.1.2.1	Estrutura, síntese e processamento	25
2.1.2.2	Formas circulantes	30
2.1.2.3	Distribuição tecidual e expressão gênica.....	31
2.1.2.4	Receptores	35
2.2	PEPTÍDEOS NATRIURÉTICOS E PLACENTA.....	40
2.2.1	Generalidades.....	40
2.2.2	Síntese placentária dos peptídeos natriuréticos e expressão gênica	41
2.2.3	Ações dos peptídeos natriuréticos na placenta	44
2.2.4	Receptores dos peptídeos natriuréticos na placenta.....	45
2.2.5	Peptídeos natriuréticos placentário e algumas intercorrências clínicas.....	47
3	OBJETIVOS.....	49
4	PACIENTES E MÉTODOS.....	51
4.1	PACIENTES	52
4.1.1	Crítérios de inclusão e exclusão no estudo.....	53
4.1.2	Caracterização do grupo de gestantes estudadas.....	54
4.1.2.1	Caracterização das pacientes estudadas conforme níveis pressóricos.....	56
4.1.2.2	Descrição dos parâmetros maternos estudados.....	57
4.1.2.3	Gravidade da doença hipertensiva.....	58
4.1.3	Descrição dos parâmetros fetais/neonatais avaliados.....	59
4.2	Obtenção de sangue fetal e estudo gasométrico.....	61
4.3	Obtenção de amostras de placenta.....	62
4.4	Radioimunoensaio para determinação do ANP e BNP placentário	63
4.5	Modelo do estudo	65
4.6	Análise estatística.....	65

5	RESULTADOS	67
5.1	Concentração placentária de ANP e fatores clínicos materno-fetais.....	68
5.1.1	Concentração placentária de ANP.....	68
5.1.2	Concentração placentária de ANP nos grupos de estudo.....	69
5.1.3	Correlação entre a concentração placentária de ANP e parâmetros clínicos maternos.....	70
5.1.3.1	ANP placentário e algumas características clínicas maternas	70
5.1.3.2	Correlação da concentração placentária do ANP e alguns parâmetros da propedêutica materna.....	72
5.1.3.3	ANP placentário e alguns aspectos de gravidade da doença materna	74
5.1.3.4	Correlação da concentração do ANP placentário e o uso materno de alguns fármacos.....	75
5.1.4	Concentração do ANP placentário conforme os parâmetros fetais/neonatais estudados.....	76
5.1.4.1	ANP placentário e o doppler fetal.....	76
5.1.4.2	ANP placentário e alguns parâmetros clínicos e laboratoriais fetais e neonatais	79
5.2	Concentração placentária de BNP e fatores clínicos materno-fetais.....	82
5.2.1	Concentração placentária de BNP	82
5.2.2	Concentração placentária de BNP nos grupos de estudo.....	82
5.2.3	Correlação entre a concentração placentária de BNP e fatores clínicos maternos	83
5.2.3.1	BNP placentário e algumas características clínicas maternas.....	83
5.2.3.2	Correlação da concentração placentária do BNP e alguns parâmetros da propedêutica materna.....	86
5.2.3.3	BNP placentário e alguns aspectos de gravidade da doença materna.....	87
5.2.3.4	Correlação da concentração do BNP placentário e o uso materno de alguns fármacos.....	88
5.2.4	Concentração do BNP placentário conforme os parâmetros fetais/neonatais estudados.....	89
5.2.4.1	BNP placentário e o Doppler fetal.....	89
5.2.4.2	BNP placentário e alguns parâmetros clínicos e laboratoriais fetais e neonatais.....	91

6	COMENTÁRIOS.....	93
	6.1 Comentários quanto aos aspectos metodológicos do estudo.....	96
	6.2 Comentários da correlação entre ANP e fatores clínicos materno-fetais.....	99
	6.3 Comentários da correlação entre BNP e fatores clínicos materno-fetais.....	103
	6.4 Comentários finais	105
7	CONCLUSÕES.....	112
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	114
9	ANEXOS	123

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANP	<i>Atrial Natriuretic Peptide</i> (Peptídeo Atrial Natriurético)
ANG II	Angitensina II
BE	<i>Base Excess</i> (excesso de base)
BNP	<i>Brain Natriuretic Peptide</i> (Peptídeo Cerebral Natriurético ou Peptídeo Natriurético tipo B)
CAPES	Fundação de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CIUR	Crescimento Intra-Uterino Restrito
CNP	<i>C- type Natriuretic Peptide</i> (Peptídeo Natriurético tipo C)
COEP	Comissão de Ética em Pesquisa
cpm	Contagem por minuto
FIG.	Figura
GMPc	<i>Cyclic Guanosina Monophosphate</i> (Guanosina 3' 5' –monofosfato cíclica)
GRAF.	Gráfico
GTP	<i>Guanosine Triphosphate</i> (Guanosina trifosfato)
HC	Hospital das Clínicas
HELLP	<i>Hemolysis, Elevated Liver Enzymes, Low Platelet count</i> (Síndrome clínica que pode estar presente nos casos de pré-eclâmpsia caracterizada pela hemólise, elevação das enzimas hepáticas e diminuição da contagem de plaquetas)
HPLC	<i>High Pressure Liquid Chromatography</i> (Cromatografia líquida de alta pressão)
IrANP	ANP imunoreativo
IU/ml	Unidade Internacional por mililitro
Log. 10	Logaritmo na base 10
M	Molar
mg	10 ⁻³ grama
mg/dl	Miligrama por decilitro
mmHg	Milímetros de Mercúrio
mRNA	<i>Messenger Ribonucleic Acid</i> (RNA mensageiro)
N	Normal
NOLA	N- nitro-L- arginina
NPR-A	<i>Natriuretic Peptide Receptor – A</i> (Receptor de peptídeo natriurético tipo A)
NPR-B	<i>Natriuretic Peptide Receptor – B</i> (Receptor de peptídeo natriurético tipo B)
NPR-C	<i>Natriuretic Peptide Receptor – C</i> (Receptor de peptídeo natriurético tipo C)
NS	Não Significativo
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAM	Pressão Arterial Média
PAS	Pressão Arterial Sistólica

pg	10^{-12} grama
RIE	Radioimunoensaio
RNA	Ácido Ribonucléico
RVP	Resistência Vascular Periférica
SRA	Sistema Renina-Angiotensina
TAB.	Tabela
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
Northern blot	

LISTA DE FIGURAS

1	Seqüência de aminoácidos dos três peptídeos natriuréticos.....	26
2	Modelo de processamento do ANP.....	28
3	Ações dos peptídeos natriuréticos nas células alvo	39
4	Local de obtenção de material de placenta para estudo dos peptídeos natriuréticos.....	63

LISTA DE GRÁFICOS

1	Distribuição das pacientes por idade (em anos).....	54
2	Distribuição das pacientes por paridade.....	55
3	Distribuição das pacientes de acordo com a idade gestacional (em semanas).....	55
4	Valores médios da pressão arterial nos grupos de estudo.....	56
5	Distribuição dos recém-natos quanto ao peso ao nascimento	60
6	Distribuição dos recém-nascidos quanto à classificação do peso ao nascimento.	61
7	Concentração média de ANP placentário de acordo com o resultado do Doppler de artéria uterina.....	73
8	Correlação entre a concentração de ANP e o resultado da relação umbilico-cerebral ao Doppler, no grupo de fetos de mães normotensas.....	77
9	Correlação entre a concentração de ANP e o resultado da relação umbilico-cerebral ao Doppler no grupo de fetos de mães hipertensas.....	78
10	Correlação entre a concentração de ANP e o Apgar 5 ^o minuto no grupo de recém-natos de mães hipertensas.....	81
11	Correlação entre a concentração de BNP e a idade gestacional (em semanas).....	85
12	Correlação entre a concentração placentária de BNP e o peso do recém-nato (em gramas) no grupo de hipertensas.....	92
1a	Distribuição das pacientes quanto ao uso de fármacos para controle do quadro hipertensivo.....	126
1b	Teste de normalidade de Anderson-Darling para a transformação Log. ₁₀ da concentração de ANP placentário.....	127
1c	Teste de normalidade de Anderson-Darling para a transformação Log. ₁₀ da concentração de BNP placentário.....	129

LISTA DE TABELAS

1	Distribuição das gestantes segundo a indicação para inclusão no estudo.....	57
2	Características dos recém-natos	60
3	Concentração placentária de ANP.....	69
4	Concentração placentária de ANP em relação aos grupos de estudo.....	69
5	Correlação entre parâmetros clínicos maternos e a concentração placentária de ANP.....	71
6	Concentração placentária de ANP em relação a alguns parâmetros laboratoriais do grupo hipertenso.....	72
7	Concentração placentária de ANP em relação ao resultado do Doppler de artéria uterina.....	73
8	Concentração placentária de ANP em relação à gravidade da doença materna	74
9	Concentração placentária de ANP em relação ao uso de fármacos de controle do quadro hipertensivo.....	75
10	Correlação entre e relação umbilico-cerebral ao Doppler e a concentração placentária de ANP.....	76
11	Concentração placentária de ANP em relação ao resultado do Doppler fetal.....	79
12	Correlação entre parâmetros clínicos fetais/neonatais e a concentração placentária de ANP no grupo de pacientes normotensas.....	80
13	Correlação entre parâmetros clínicos fetais/neonatais e a concentração placentária de BNP no grupo de pacientes hipertensas.....	80
14	Concentração placentária de BNP.....	82
15	Concentração placentária de BNP em relação aos grupos de estudo.....	83
16	Correlação entre parâmetros clínicos maternos e a concentração placentária de BNP.....	84
17	Concentração placentária de BNP em relação a alguns parâmetros laboratoriais do grupo hipertenso.....	86
18	Concentração placentária de BNP em relação ao resultado do Doppler de artéria uterina.....	87
19	Concentração placentária de BNP em relação à gravidade da doença materna.....	88

20	Concentração placentária de BNP em relação ao uso de fármacos para tratamento clínico.....	89
21	Correlação entre a relação umbilico-cerebral ao Doppler e a concentração placentária de BNP.....	90
22	Concentração placentária de BNP em relação ao resultado do Doppler fetal.....	90
23	Correlação entre parâmetros clínicos fetais e a concentração placentária de BNP no grupo de pacientes normotensas.....	91
24	Correlação entre parâmetros clínicos fetais e a concentração placentária de BNP no grupo de pacientes hipertensas.....	92
1a	Medidas de pressão arterial nos grupos de estudo.....	126
1b	Concentração placentária de ANP conforme o tipo da hipertensão.....	127
2b	Correlação entre parâmetros clínicos maternos e a concentração placentária de ANP grupo normotensas.....	128
3b	Correlação entre parâmetros clínicos maternos e a concentração placentária de ANP grupo de hipertensas.....	128
1c	Concentração placentária de BNP conforme o tipo da hipertensão.....	129
2c	Correlação entre parâmetros clínicos maternos e a concentração placentária de BNP grupo de hipertensas.....	130

QUADRO

1	Fatores que afetam a expressão gênica do ANP <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	34
---	---	----

RESUMO:

MENEZES, G. A. Concentração Placentária dos Peptídeos Natriuréticos ANP e BNP: Associação entre a Concentração Placentária e os Parâmetros Clínicos Maternos e Fetais em Gestações de Normotensas e de Hipertensas. [Tese de Doutorado]. Belo Horizonte, 2002. Faculdade de Medicina – Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.

Introdução: O estudo da concentração do peptídeo natriurético tipo A (ANP) e peptídeo natriurético tipo B (BNP) na circulação materna de pacientes com Pré-eclâmpsia tem sido alvo de várias publicações. Entretanto, desconhece até o momento, se é possível dosar o BNP em placentas humanas e qual importância fisiopatológica do ANP e BNP na placenta de pacientes com pré-eclâmpsia.

Objetivos: Determinar a presença e concentração do ANP e BNP na placenta e estudar a influência de alguns fatores clínicos maternos e fetais na concentração placentária destes peptídeos. **Métodos:** Foi realizado em estudo prospectivo e transversal do tipo caso controle, incluindo 83 gestantes, sendo 27 normotensas e 56 hipertensas. Amostras de sangue de cordão foram retiradas para estudo gasométrico e de placenta para dosagem de ANP e BNP. Para mensuração utilizou-se a técnica do Radioimunoensaio (RIA) e os resultados de ANP e BNP expressos em pg/mg de proteína solúvel. Algumas variáveis maternas e fetais foram estudadas e correlacionadas com a concentração dos peptídeos: idade materna, idade gestacional, pressão arterial, doppler de artéria uterina, doppler fetal, apgar de 1º e 5º minuto, peso do neonato, pH e BE. Para estudo das correlações foi utilizada a análise de regressão simples e para a comparação das médias da concentração dos peptídeos nos grupos de estudo, foi utilizado o teste T, considerando-se um nível de significância de 5% para os testes de hipóteses.

Resultados: Não houve diferença na concentração de ANP e BNP quando comparados os grupos de normotensas e hipertensas (ANP: $0,881 \pm 0,684$ versus $0,859 \pm 0,947$ valor-p=0,92; BNP: $17,4 \pm 12,6$ versus $21,9 \pm 13,7$ valor-p=0,23). No grupo de normotensas, não foi verificada correlação entre a concentração placentária de ANP e de BNP, com nenhum dos fatores materno-fetais estudados. No grupo de gestantes hipertensas, observou-se aumento da concentração do ANP placentário no subgrupo que possui incisura protodiastólica na artéria uterina quando comparado com o Doppler sem incisura ($0,454 \pm 0,392$ versus $1,17 \pm 1,16$ valor-p=0,022) e no subgrupo de fetos centralizados ($1,16 \pm 1,11$ versus $0,408 \pm 0,421$ valor-p=0,01). Em relação ao BNP encontramos associação inversa com a idade gestacional e peso do neonato (Valor-p= 0,004 e valor-p= 0,001, respectivamente). **Conclusões:** Embora não tenhamos encontrado diferença significativa nas dosagens de ANP e BNP nos grupos de normotensas e hipertensas, verificamos que alguns fatores relacionados ao agravamento da doença hipertensiva materna e ao comprometimento da vitalidade fetal podem influenciar a concentração dos peptídeos ANP e BNP placentário.

Palavras-chave: Peptídeo Natriurético tipo B (BNP). Peptídeo Natriurético tipo A (ANP). Placenta. Pré-eclâmpsia.

ABSTRACT:

MENEZES, G. A. Placental Concentration of ANP and BNP Natriuretic Peptides: Association between Placental concentration and Mother and Fetus Clinic Parameters in Normotense and Hypertense Pregnancies. [Doctoral thesis]. Belo Horizonte, 2002. Faculdade de Medicina – Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.

Introduction: The study of concentration of the type A (ANP) and type B (BNP) natriuretic peptide in maternal circulation of patients with pre-eclampsia has been the focus of several publications. However, it remains unknown if it is possible to dose BNP in human placenta and what is the pathophysiological importance of ANP and BNP in the placenta of patients with pre-eclampsia. **Objectives:** To determine the presence and the concentration of ANP and BNP in the placenta and to study the influence of mother and fetus clinic factors on the placental concentration of these peptides. **Methods:** A prospective and transversal case-control study was performed, including 83 pregnant women, of which 27 were normotense and 56 were hypertense. Blood samples from the umbilical cord were drawn for gasometrical and placenta study for ANP and BNP dosage. Radioimmunoassay (RIA) was used to determine ANP and BNP and the results were given in pg/mg of soluble protein. Some variables from mother and fetus were studied and correlated with the concentration of peptides: age of mother, gestation age, arterial pressure, Doppler of the uterine artery, Doppler of the fetus, 1-minute and 5-minute Apgar score, neonate's weight, pH and BE. Simple regression was used to study the correlations, while T-test was employed to compare peptide concentration averages in the study groups, with a significance level of 5% in hypothesis testing. **Results:** There was no difference in ANP and BNP concentration when comparing the normotense and hypertense groups (ANP: 0.881 ± 0.684 versus 0.859 ± 0.947 value-p=0.92; BNP: 17.4 ± 12.6 versus 21.9 ± 13.7 value-p=0.23). In the normotense group, ANP and BNP placental concentration showed no correlation with any mother-fetus factors studied. In the group of hypertense gestants, an increase of placental ANP concentration was observed in two subgroups: the subgroup having protodiastolic incisure in the uterine artery when compared to the Doppler without incisure (0.454 ± 0.392 versus 1.17 ± 1.16 value-p=0.022) and the subgroup of centralized fetus (1.16 ± 1.11 versus 0.408 ± 0.421 value-p=0.01). As to BNP, it was found an inverse association with gestation age and neonate's weight (Value-p= 0.004 and value-p= 0.001, respectively). **Conclusions:** No significant difference was found between the dosages of ANP and BNP in the normotense and hypertense groups, however, it was verified that some factors related to aggravation of maternal hypertense disease and compromising fetal vitality may influence the concentration of placental ANP and BNP peptides.

Keywords: Natriuretic Peptide Natriurético type B (BNP). Natriuretic Peptide Natriurético type A (ANP). Placenta. Pre-eclampsia.