

SISTEMAS ENZIMÁTICOS ERITROCITÁRIOS E SEU POTENCIAL ANTIOXIDANTE NAS GRÁVIDAS SUBMETIDAS A INDUÇÃO DO TRABALHO DE PARTO COM PGE2 INTRACERVICAL

ARTUR SILVA CRUZ, JOAQUIM SILVA NEVES, JOSÉ CANO, M. PAULA ARTEAGA,
CINTIA SIQUEIRA, M. HELENA FRANCO, M. PIRES BICHO
Laboratório de Genética. Faculdade de Medicina de Lisboa.
Serviço de Ginecologia e Obstetria. Hospital de Santa Maria. Lisboa

RESUMO

Neste estudo pretende-se averiguar a relação entre o Índice de Apgar dos recém-nascidos sujeitos à indução do trabalho de parto (TP) com gel de Prostaglandina E2 (PGE2), e as alterações do metabolismo oxidativo da grávida em TP, através de factores que actuando no eritrócito e no leito vascular, permitem uma melhor oxigenação do feto. A PGE2 participa, durante a gravidez, na regulação da resposta vascular sistémica, sobretudo, antagonizando a vasoconstrição induzida pela Angiotensina II³. A biosíntese endógena das Prostaglandinas (PGS) e dos seus derivados é influenciada pelos radicais livres de oxigénio (RLO). A produção endógena de PGS depende de mecanismos relacionados com a formação dos radicais livres e associa-se a formação destes, estando a produção dos radicais, aumentada, na gravidez sem intercorrências⁴. Foram estudados dois enzimas eritrocitários do grupo das oxiredutases e a prostaglandinémia. Os enzimas referidos, a redutase transmembranar (RTM) e a metahemoglobina redutase, (MHR) evitam a acção dos radicais de oxigénio sobre as biomoléculas celulares alvo, levando ao equilíbrio redox durante a indução, podendo a sua actividade ser modulada *in vivo* pela PGE2 exógena. Não se verificaram alterações significativas na actividade da RTM dos eritrócitos. A actividade da MHR aumenta significativamente, 30 minutos após a indução; este aumento de actividade poderá ser um mecanismo de prevenção ao stress oxidativo celular, na indução do TP ou pode ter factores desencadeantes que são independentes da indução.

SUMMARY

Erythrocyte Enzymes and their Antioxidant Potential in Pregnant Women Subjected to Labour Induction with PGE2 Endocervical Gel

Our purpose is to correlate, the apgar score of the new-borns from induction of labour (IL) with Prostaglandin E2 (PGE2) endocervical gel, and the oxidative environment of the pregnant woman during labour, studying biochemical markers of the erythrocytes. PGE2 is responsible for the regulation of the vascular response in pregnancy, namely for the vasoconstriction caused by Angiotensin II. The production of Prostaglandins *in vivo* depends on mechanisms related to free

radicals of oxygen (FRO). The production of FRO is enhanced in normal pregnancy. We have studied two erythrocytic enzymes and plasmatic concentration of PGE2 before and after the IL. Those enzymes are oxireductases-the transmembrane reductase (RTM) and the metahemoglobin reductase (MHR). Their function is to prevent the effects of the FRO on cellular biomolecules namely the endothelium and the red blood cells. This prevention of oxidative stress can facilitate the deformability of the erythrocytes, so these cells can easily transpose the small vessels and bind the oxygen to the tissues. The activity of those enzymes can be modulated by PGE2 used in the IL. We have not found significant variations on the activity of RTM after IL. The activity of MHR was enhanced with statistical significance, 30 minutes after the induction. This enhancement of activity can be a mechanism to prevent the oxidative stress of the induction of labour.

INTRODUÇÃO

A PGE2 é um derivado do Ácido Araquidónico (AA), tendo com metabolitos intermediários os endoperóxidos. O AA faz parte dos ácidos gordos insaturados estando em maior concentração nos primatas e daí a maior quantidade de prostaglandinas na série E2¹.

A sua acção biológica na maturação cervical e na indução da contractilidade do miométrio levou à sua produção pela indústria farmacêutica em 1967, para a indução do trabalho de parto¹.

A sua administração pode ser feita por várias vias, tais como, oral sistémica e vaginal. A via vaginal é a mais utilizada, pela comodidade de aplicação e pelos bons resultados obtidos e dentro desta, a via endocervical permite associar uma menor dosagem (0,5mg) a índices de induções positivas na ordem dos 96%⁵.

Sabe-se igualmente que a PGE2 participa na regulação da resposta vascular sistémica, durante a gravidez, como um potente vasodilatador³.

A produção endógena das prostaglandinas depende de mecanismo, em que intervêm radicais de oxigénio⁶.

A gravidez está associada a uma maior catabolismo oxidativo, mesmo numa gestação que decorra sem intercorrências⁴. Os radicais de oxigénio resultantes deste stress oxidativo, podem interferir na síntese *in vivo* das prostaglandinas e seus derivados biológicos através da inibição da Prostaglandina sintase. Esta interferência, seria exercida pela acção do Anião superóxido ou pela oxidação do ácido araquidónico⁶.

Os radicais de oxigénio ao lesar o endotélio vascular, membranas celulares e ao neutralizar vasodilatadores como o EDRF (Factor Relaxante Derivado do Endotélio), alteram a resposta de adaptação vascular necessária durante a gravidez e trabalho do parto^{2,11}.

Outra das estruturas que podem ser alvo dos radicais de oxigénio, são os eritrócitos. Estas células possuem enzimas que têm acção depuradora dos radicais de oxigénio, enzimas estas que estão localizadas quer na membrana celular quer no citoplasma. São estas enzimas que permitem garantir a integridade celular à sobrecarga do estado redox².

Estas enzimas eritrocitárias pertencem ao mesmo sistema metabólico, as oxireductases. Um destes sistemas, a reductase transmembranar, permite a transferência dos electrões para o exterior da célula, reduzindo deste modo os aniões permeantes. O enzima citoplasmático, a metahemoglobina reductase é responsável pela reciclagem da Hemoglobina após a autoxidação, resultando daqui a

metahemoglobina. Os dois enzimas utilizam como cofactor o NADH, (Nicotamida Adenina Dinucleotídeo), que é o fornecedor de electrões para qualquer destes enzimas e é proveniente da 2,3-DPG da via glicolítica².

Um estudo realizado em grávidas submetidas à indução do trabalho de parto com PGE2 e Oxitocina mostrou que o Índice de Apgar dos Recém Nascidos (avaliação ao 1º e ao 5º minuto) cujo trabalho de parto fora induzido com PGE2 via endocervical, eram superiores aos submetidos à indução com Oxitocina⁷. Como o Índice de Apgar depende significativamente da bioxigenação intraparto do feto, foi postulado que a PGE2 teria uma acção benéfica nessa oxigenação, por via duma maior deformabilidade do eritrócito, atingindo com maior facilidade, estruturas capilares de menor diâmetro.

Neste trabalho pretende-se averiguar e relacionar o estado do recém-nascido com o estado redox da grávida submetida à indução do trabalho de parto com gel de PGE2 por via endocervical, particularmente através do estudo dos dois enzimas eritrocitários, reductase transmembranar e a metahemoglobina reductase, relacionando-as com os doseamentos da PGE2 plasmática.

POPULAÇÃO

Foram estudadas 31 grávidas de termo sem patologia materna ou obstétrica associada e que apresentavam condições para indução do trabalho de parto. As restantes características da população estão discriminadas no *quadro 1*.

Quadro 1 – Características gerais da população em estudo

Idade	29 ± 5.05
Idade Gestacional	40.3 ± 1.02
Controle Ecográfico	100%
Peso ao nascer	3367.5 ± 388.97
Índice de Apgar	9 / 10

A idade, o tempo de gestação, tipo de parto e o peso do feto estão representados em média e desvio-padrão. O *quadro 2* representa a distribuição em termos percentuais do tipo de parto. O controle ecográfico e o tipo de parto estão representados em termos percentuais. O Índice de Apgar está representado em medianas.

METODOLOGIA

Fez-se a colheita de 8ml de sangue por venopunção para tubos de plástico com EDTA Na² a 0,1M e 50g de

Quadro 2 – Tipo de Parto

Tipo de Partos (N=31)	%
Eutócicos	68.3%
Forceps	22%
Cesareanas*	9.7%

*Todos os casos de Cesareanas tiveram como motivo: Incompatibilidade Feto-pélvica

acetilsalicilato de lisina, antes e 30 minutos após a aplicação do gel. Os eritrócitos e o plasma foram separados por centrifugação a 500 x g, durante 10 minutos e a 4°C. Fez-se a lavagem dos glóbulos vermelhos, por centrifugações sucessivas nas mesmas condições atrás referidas. O plasma resultante foi utilizado para o doseamento da Prostaglandinemia. O doseamento da actividade da RTM foi feita por espectrofotometria, após incubação dos eritrócitos, segundo a técnica descrita por Oringer e Oer⁸. A actividade da MHR foi determinada por espectrofotometria, a partir de eritrócitos hemolisados segundo técnica descrita por P. Board⁹.

O doseamento da PGE2 plasmática, foi feito por RIA, utilizando um anticorpo altamente específico (AntiPGE2 do Instituto Pasteur), um antigénio homólogo com marcação por isótopo Tritio 3HPGE2 (Amersham) e PGE2 não marcada (Sigma), após extracção plasmática e cromatografia¹⁰.

Os resultados foram distribuídos em termos percentuais e analisados por Teste de t de Student, por correlações lineares simples e por avaliação da significância do coeficiente de correlação de Pearson.

RESULTADOS

A actividade dos dois enzimas e a concentração plasmática da PGE2 antes e após a indução estão representadas no quadro 3. A actividade da RTM foi expressa em mmol/l. cel./hora e a actividade da MHR foi expressa em mol/gr. de Hb/min.

Quadro 3 – Quantificação da Actividade dos Enzimas e da Prostaglandinemia

	Basal	30 minutos
Actividade RTM	3,47 ± 1,58	3,52 ± 2,12
Actividade MHR	10,86 ± 5,44	14,12 ± 6,57
Prostaglandinemia	334,9 ± 51,9	688,4 ± 150,3

A prostaglandinemia foi expressa em pg/ml. Os resultados estão representados em médias e desvio-padrões:

Não existe significado estatístico entre os resultados da actividade da RTM (p=0.446), nas duas amostras analisadas. A correlação da actividade deste enzima antes da aplicação do gel e da prostaglandinemia em igual circunstância é positiva (r=0,133) mas sem significado estatístico (p=0,623). A correlação das actividades da RTM antes e após a aplicação do gel de PGE2 é positiva

(r=0,78) e significativa (p=0). A correlação linear entre as actividades destas enzimas é estatisticamente significativa (Actividade pós-aplicação= -0.95+[1,044 x Actividade Basal]; r2=60,86 e p=0).

A diferença entre a actividade basal da MHR e a actividade após a aplicação do gel é estatisticamente significativa (p=0,029). A correlação entre a actividade basal da MHR e a Prostaglandinemia é inversa (r=-0.61) e estatisticamente significativa (p=0,027). A correlação linear entre a actividade da MHR antes e após a aplicação do gel é positiva (r=0,87) e estatisticamente significativa (p=0). A correlação entre a actividade da MHR depois da aplicação do gel e a prostaglandinemia é inversa (r=-0,569) e com significado estatístico (p=0,426). A regressão linear simples da actividade da MHR antes da aplicação do gel em função da actividade da mesma enzima depois da aplicação do gel, é estatisticamente significativa (Actividade pós-aplicação=2,885+[1.033 x Actividade Basal]; r2=73,41 e p=0,00001).

A regressão linear simples entre a actividade da MHR antes da aplicação do gel e a prostaglandinemia depois da aplicação, é estatisticamente significativa (Actividade Basal=38,458+[-0,074 x Prostaglandinemia pós-aplicação]; r2=32,33 e p=0,034). A regressão linear simples entre a actividade da MHR antes da aplicação do gel e a prostaglandinemia na mesma condição é significativa (Actividade pré-aplicação=32,585+[0,026 x Prostaglandinemia pré-aplicação]; r2=37,1 e p=0,027).

DISCUSSÃO

A indução do trabalho de parto com PGE2 endocervical não parece interferir, por mecanismos directos com a actividade da enzima, RTM. Nos estádios precoces da indução o estado oxidativo das grávidas não parecer sofrer alterações que sejam suficientes para alterar significativamente a actividade da RTM dos eritrócitos. No entanto não se pode excluir que o tempo de 30 minutos de indução, não tenha sido o suficiente para produzir alterações do estado redox das grávidas de modo a interferir com a actividade da RTM.

No entanto, a actividade da MHR, no mesmo intervalo de tempo, aumenta nas fases iniciais da indução do trabalho de parto, sendo este aumento estatisticamente significativo. Esta enzima, parece ser mais sensível a alterações do estado oxidativo celular que a RTM. A resposta da MHR às alterações do estado oxidativo é mais consistente que a resposta da RTM.

O aumento verificado da actividade da MHR pode estar associado ao aumento da sobrecarga oxidativa celular desencadeado pela indução do trabalho de parto ou pode resultar da acção de factores independentes da indução. Tal aumento de actividade, pode constituir um mecanismo de prevenção à sobrecarga oxidativa do trabalho de parto, prevenção essa, que pode ser favorecida pela utilizando a PGE2. Esta protecção do estado oxidativo pode diminuir o risco de lesão endotelial e celular, nomeadamente dos eritrócitos, permitindo fácil circulação dos mesmos e uma melhor oxigenação do ainda feto, durante o trabalho de parto, o que pode contribuir para a

existência de indicadores que levam a obter uma boa avaliação da sobrevivência imediata do recém-nascido, através do IA.

BIBLIOGRAFIA

1. ARTUR DA SILVA CRUZ: Prostaglandinas e a indução do parto. Bases fisiológicas e contribuição experimental. Dissertação para Doutorado apresentada à Fac. Med. de Lisboa em 1991
2. MP BICHO: Radicais Livres na Hipertensão Arterial. Arquivos Portugueses da Ciências Biológicas 1991; Tomo XXV: 135-142
3. CUNNINGHAM, MAC DONALD, GANT: Williams Obstetrics. 18th Edition. Appleton and Lange 1989
4. ERSKINE KJ, DAVIES R, IVERSEN SA: The Lancet 1985: 554-555
5. CALDER AA, EMBREY MP, TAIT T; Ripening of the Cervix with extra-amniotic prostaglandin E2 in viscous gel before induction of labour. Brit J Obst Gyn 1977; 84; 264
6. BARRY HALLIWELL, JOHN MC GUTTERIDGE: Free radicals in Biology and Medicine. 2nd edition Clarendon Press Oxford 1989
7. A. SILVA CRUZ et al: Prostaglandin E2 gel compared to Oxitocin for medically indicated labour induction at term: a controlled clinical trial. Pharmatherapeutic 1988; Vol. 5 N° 4, 228
8. ORRINGER EP, ROER MES: Journal of Clinical Investigation 1979; Vol. 63; 53
9. BOARD PG et al: Clin Chim Acta 1981; Vol. 109: 233
10. F DRAY, B CHAMBORNEL, J MACLONF: Radioimmunoassay of prostaglandins F2, E1 and E2 in Human Plasma. European Journal of Chemical Invest 1975; Vol. 5:311-818
11. G ZEEMAN, G DEKKER: Clin Obst Gynec 1992; Vol.2 N. 35: 317-337