

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

**Silmara Ana Vendrame**

**PERFIL OXIDATIVO DO SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL DE  
ACORDO COM A DURAÇÃO DO TRABALHO DE PARTO DE  
GESTANTES**

Santa Maria, RS  
2019

**Silmara Ana Vendrame**

**PERFIL OXIDATIVO DO SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL DE ACORDO COM  
A DURAÇÃO DO TRABALHO DE PARTO DE GESTANTES**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi

Santa Maria, RS  
2019

Vendrame, Silmara Ana  
Perfil oxidativo do sangue de cordão umbilical de  
acordo com a duração do trabalho de parto de gestantes  
/ Silmara Ana Vendrame.- 2019.  
64 p.; 30 cm

Orientadora: Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós  
Graduação em Ciências Farmacêuticas, RS, 2019

1. Estresse oxidativo 2. Cordão umbilical 3. Neonatos  
I. Bernasconi , Thissiane de Lima Gonçalves II. Título.

**Silmara Ana Vendrame**

**PERFIL OXIDATIVO DO SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL DE ACORDO COM  
A DURAÇÃO DO TRABALHO DE PARTO DE GESTANTES**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**

**Aprovado em 22 de janeiro de 2019:**

---

**Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi, Dra. (UFSM)  
(Presidente/Orientadora)**

---

**Paula Bitencourt, Dra. (UFSM)**

---

**Ricardo Brandão, Dr. (UFPE)**

Santa Maria, RS  
2019

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho as pessoas que estiveram ao meu lado ao longo de toda a minha vida, em especial aos meus pais, que foram o meu alicerce durante toda essa caminhada.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse. Foi a minha maior força nos momentos de angústia, sem ele, nada disso seria possível.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi, minha orientadora e exemplo profissional, por acreditar em mim e me inserir em seu laboratório, fornecendo suporte para a realização deste trabalho. Obrigada por toda a assistência, paciência e auxílio prestado durante a elaboração desta dissertação e pela amizade ao longo destes anos.

Aos professores Paula Bitencourt e Ricardo Brandão que aceitaram avaliar essa dissertação, pela disponibilidade e pelas contribuições que certamente serão muito importantes para o aprimoramento desse trabalho.

Aos meus pais Sérgio Vendrame e Noeli Vendrame, pelo amor, incentivo e apoio incondicional que me proporcionou a continuidade dos estudos até a chegada a este mestrado. Meus eternos agradecimentos.

Aos meus irmãos, cunhadas, tios, padrinhos, primos e em especial ao meu afilhado Eduardo, por todo o carinho recebido e por terem me apoiado ao longo desta caminhada.

A meu namorado Leonardo Somavilla, meu porto seguro, companheiro de todas as horas, pela compreensão, respeito e tolerância. Te amo!

As colegas de laboratório Alieni Bitencourt, Bárbara Nicoli, Hellen Lopes de Paula, Leidiane de Lucca e Ligia Wess pela amizade e apoio durante esses últimos anos para a realização desse trabalho.

A amiga de longa data Maristela Casarotto, por ter me acolhido gentilmente em sua residência em Santa Maria durante a realização deste trabalho.

A amiga Liésnen Dal Mora que se fez presente durante a realização deste trabalho, obrigada pelas risadas e momentos de descontração e por todo o apoio recebido.

Aos professores, funcionários e colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

Aos funcionários do DACT, pela disponibilidade e ajuda diária. Muito obrigada!

À UFSM pela oportunidade de ter cursado no PPGCF.

À CAPES pela concessão do apoio financeiro para o desenvolvimento dessa pesquisa.

Aos funcionários do HUSM, enfermeiras e médicos residentes do Centro Obstétrico, em especial ao Dr. Francisco Gallarreta, pela disponibilidade e boa vontade nos dias de coleta.

Um agradecimento muito especial a todas as gestantes que de boa vontade aceitaram participar da minha pesquisa.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento do trabalho.

**MUITO OBRIGADA!**

## RESUMO

### PERFIL OXIDATIVO DO SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL DE ACORDO COM A DURAÇÃO DO TRABALHO DE PARTO DE GESTANTES

AUTORA: Silmara Ana Vendrame

ORIENTADORA: Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi

Estresse oxidativo é caracterizado por um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a capacidade antioxidante do organismo. Sabe-se que o trabalho de parto é um processo caracterizado por um aumento de estresse oxidativo, provocado pela alteração constante da pressão de oxigênio no tecido placentário durante a contração, além do aumento do consumo de oxigênio pela musculatura esquelética e uterina envolvidas na contração. A duração do trabalho de parto (DTP) está relacionada com o nível de estresse oxidativo, sendo já relatado o aumento de diversos parâmetros oxidativos durante o trabalho de parto prolongado, o que torna relevante a avaliação dos possíveis efeitos oxidativos sobre o recém-nascido. Sendo assim, esse estudo tem por objetivo determinar marcadores de estresse oxidativo em sangue de cordão umbilical de neonatos com DTP inferior a cinco horas (n=33) e com DTP superior a cinco horas (n=35) e investigar uma possível relação com alterações em neonatos. O estresse oxidativo foi avaliado através da quantificação da relação nitrato/nitrito (NOx), espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), grupos tióis protéicos (P-SH), níveis de vitamina C e capacidade plasmática de redução de ferro (FRAP) e suas correlações, além da determinação da atividade da enzima  $\delta$ -ALA-D. Através dos resultados obtidos podemos verificar que os parâmetros avaliados, tanto oxidativos como antioxidativos, foram significativamente maiores em sangue de cordão umbilical com DTP>5h, confirmados pela correlação positiva entre alguns parâmetros, e a atividade da enzima  $\delta$ -ALA-D foi significativamente menor em sangue de cordão umbilical de neonatos de gestantes com maior duração de trabalho de parto. Não houve diferenças significativas em relação as condições físicas dos recém-nascidos avaliados pelo índice de Apgar e peso ao nascer. Em conclusão, para o nosso conhecimento esse é o primeiro trabalho que descreve que o maior tempo de trabalho de parto, apesar de não ser considerado prolongado, resultou em maior estresse oxidativo, o que pode refletir consideravelmente na saúde de neonatos.

**Palavras-chave:** Parto. Estresse oxidativo. Antioxidantes. Neonatos.

## ABSTRACT

### OXIDATIVE PROFILE OF UMBILICAL CORD BLOOD ACCORDING TO THE DURATION OF LABOR OF PREGNANT

AUTHOR: Silmara Ana Vendrame

ADVISOR: Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi

Oxidative stress is characterized by an imbalance between the production of free radicals and the body's antioxidant capacity. It is known that labor is a process characterized by an increase in oxidative stress, caused by the constant alteration of the oxygen pressure in the placental tissue during the contraction, besides the increase of the oxygen consumption by the skeletal and uterine musculature involved in the contraction. The duration of labor (DOL) is related with level of oxidative stress, and an already was reported the increase of oxidative parameters during prolonged labor has been reported, which makes it relevant to evaluate the possible oxidative effects in the newborn. Therefore, this study aims to determine markers of oxidative stress in umbilical cord blood of neonates with DOL less than five hours (n = 33) and with DOL greater than five hours (n = 35) and to investigate a possible relation with changes in neonates. The oxidative stress was evaluated by quantification of nitrate / nitrite (NO<sub>x</sub>), thiobarbituric acid reactive species (TBARS), protein thiol groups (P-SH), vitamin C levels and plasma iron reduction capacity (FRAP) and their correlations besides the determination of the activity of the enzyme  $\delta$ -ALA-D. By means of the obtained results we can verify that the parameters evaluated both oxidative and antioxidative were significantly higher in umbilical cord blood with DOL > 5h, confirmed by the positive correlation between some parameters, and the activity of the  $\delta$ -ALA-D enzyme was significantly lower in blood of umbilical cord of newborns of pregnant women with longer duration of labor. There were no significant differences in the physical conditions of the newborns evaluated by Apgar score and birth weight. In conclusion, to our knowledge this is the first paper that describes that the longer labor time, although not considered prolonged, resulted in greater oxidative stress, which may reflect considerably on the health of neonates

**Keywords:** Childbirth. Oxidative stress. Antioxidants. Neonates.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### APRESENTAÇÃO

Figura 1 – Formação de EROs a partir da redução do oxigênio molecular até a formação de água.....	16
Figura 2 – Processo de peroxidação lipídica.....	17
Figura 3 – Defesas antioxidantes do organismo. ....	19
Figura 4 – Ação das enzimas SOD, GPX e catalase no sistema antioxidante. ....	20
Figura 5 – Doenças relacionadas ao estresse oxidativo. ....	22
Figura 6 – Síntese de PGB a partir de dois compostos de ALA .....	23
Figura 7 – Alterações fisiológicas que ocorrem durante o trabalho de parto.....	26
Figura 8 – Mecanismo pelo qual ENaC induz o início do trabalho de parto a termo ou pré-termo .....	28
Figura 9 – Fatores que favorecem os recém-nascidos a doenças mediadas por RLs e as doenças relacionadas .....	29

### MANUSCRITO

Figure 1 – Activity and index of reactivation of the enzyme $\delta$ -ALA-D .....	52
---	----

## LISTA DE TABELAS

### MANUSCRITO

Table 1 – Maternal and neonatal clinical and demographic characteristics according to the duration of labor (DOL) .....	49
Table 2 – Oxidative damage markers and antioxidant defenses in neonates according to duration of labor (DOL) .....	50
Table 3 – Correlation between parameters evaluated in neonates .....	51

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALA	5-aminolevulinato
ATP	Adenosina trifosfato
COX-2	Ciclooxigenase 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DOL	Duration of labor
DTNB	5',5'-ditiobis-(2-ácido nitrobenzóico)
DTT	Ditiotreitol
DTP	Duração do trabalho de parto
ENaC	Canal de sódio epitelial
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
FRAP	Poder antioxidante redutor do ferro
G-6-PDH	Glicose 6 fosfato desidrogenase
GR	Glutaciona redutase
GSH-Px	Glutaciona peroxidase
GSH	Glutaciona reduzida
4-HNE	4-hidroxinonenal
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 $\beta$
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
LOOH	Hidroperóxido lipídico
MDA	Malondialdeído
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NO <sub>2</sub>	Dióxido de nitrogênio
NO <sub>x</sub>	Nitrate/nitrite
N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Trióxido de dinitrogênio
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	Radical ânion superóxido
•OH	Radical hidroxila
•OOCR	Radical alquilperoxila
ONOO <sup>-</sup>	Peroxinitrito
ON	Oxido nítrico
PGB	Porfobilinogênio monopirrólico
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandina E <sub>2</sub>
P-SH	Protein thiol groups
RLs	Radicais livres
SOD	Superóxido dismutase
SUS	Sistema Único de Saúde
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral
$\delta$ -ALAD	Enzima delta-aminolevulinato desidratase

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	13
1.1	REFERENCIAL TEÓRICO .....	14
1.1.1	<b>Estresse oxidativo</b> .....	14
1.1.2	<b>Enzima Delta-Aminolevulinato desidratase</b> .....	23
1.1.3	<b>Trabalho de parto e estresse oxidativo</b> .....	24
1.1.4	<b>Estresse oxidativo em neonatos</b> .....	28
1.2	PROPOSIÇÃO .....	32
1.2.1	<b>Proposição Geral</b> .....	32
1.2.2	<b>Proposições Específicas</b> .....	32
1.3	MATERIAIS E MÉTODOS .....	33
<b>2</b>	<b>MANUSCRITO - Duration of labor interferes with markers of oxidative stress in umbilical cord blood of neonates</b> .....	34
<b>3</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	53
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	54
	<b>ANEXO A – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO À REVISTA FREE RADICAL RESEARCH</b> .....	61
	<b>ANEXO B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP</b> .....	62

## 1 APRESENTAÇÃO

A gravidez é um período que proporciona mudanças fisiológicas tanto para a mãe quanto para o feto, que são decorrentes da adaptação materna para a gestação que possibilitam o desenvolvimento e crescimento fetal, preparação da mãe para a amamentação e trabalho de parto (BRETT et al., 2014). O trabalho de parto é um processo que está relacionado ao estresse oxidativo devido à elevação da produção de mediadores pró-inflamatórios e ao aumento do consumo de oxigênio pelos tecidos, que provocam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (VAKILIAN et al., 2009).

O estresse oxidativo pode ser definido como um desequilíbrio entre as EROs e os seus mecanismos de reparo e desintoxicação (BAK; ROSZKOWSKI, 2013). Em indivíduos saudáveis existe um equilíbrio entre a produção de radicais livres (RLs) e a sua eliminação por sistemas antioxidantes, (MEHMETOGLU et al., 2002) no entanto, o trabalho de parto é um processo que pode ocasionar um desequilíbrio oxidativo na mãe e no neonato (CHITRA; MATHANGI; JOHNSON, 2016), devido a diversos fatores como o medo, dor, hipóxia e ansiedade (VAKILIAN et al., 2009). Além disso, diferentes modos de entrega e certas variáveis como a idade materna, paridade, sexo do bebê, duração do trabalho de parto (DTP) e nutrição materna podem influenciar consideravelmente o estresse oxidativo materno e fetal (CHITRA; MATHANGI; JOHNSON, 2016). Esses fatores podem levar a um quadro de estresse oxidativo significativo, com alta produção de EROs, que podem estar envolvidas na patogênese de diversas doenças neonatais (VAKILIAN et al., 2009).

O aumento de RLs em recém-nascidos pode estar associado com inúmeras patologias, pois danificam as membranas celulares causando a peroxidação lipídica entre outros prejuízos (GULBAYZAR et al., 2011). O dano induzido por RLs parece também ser um fator contribuinte para diversas doenças neonatais como a síndrome do desconforto respiratório, displasia broncopulmonar, leucomalácia periventricular, enterocolite necrosante, persistência do canal arterial e retinopatia da prematuridade (AYKAC; OZSUREKCI, 2016).

As defesas antioxidantes são capazes de inibir o ataque oxidante reduzindo a iniciação ou a propagação de lesões induzidas por RLs (CHITRA; MATHANGI; JOHNSON, 2016). Os mecanismos de eliminação de RLs incluem a ação de enzimas

antioxidantes que limitam a concentração celular de EROs e previnem danos oxidativos (LEKHARU et al., 2014). A enzima  $\delta$ -Aminolevulinato desidratase ( $\delta$ -ALA-D) é proposta como um marcador de estresse oxidativo, sendo que a sua inibição prejudica a síntese do grupamento heme e gera acúmulo do substrato 5-aminolevulinato (ALA), que acelera a produção de EROS, sendo relacionada ao estresse oxidativo e a diversas patologias (BAIERLE et al., 2014; ROCHA et al., 2012; SAUER et al., 2014).

Embora o estresse oxidativo esteja fisiologicamente presente no período gestacional, durante o trabalho de parto o seu desequilíbrio oxidativo pode estar associado ao aumento da morbimortalidade materno e fetal, refletindo sobre a saúde do recém-nascido. Já foram relatados estudos relacionando a duração de trabalho de parto prolongado com o estresse oxidativo (RAO et al., 2003), porém a relação de parâmetros de estresse oxidativo e da atividade da enzima  $\delta$ -ALA-D em recém-nascidos com trabalho de parto não prolongado será para o nosso conhecimento relatado pela primeira vez.

## 1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1.1 Estresse oxidativo

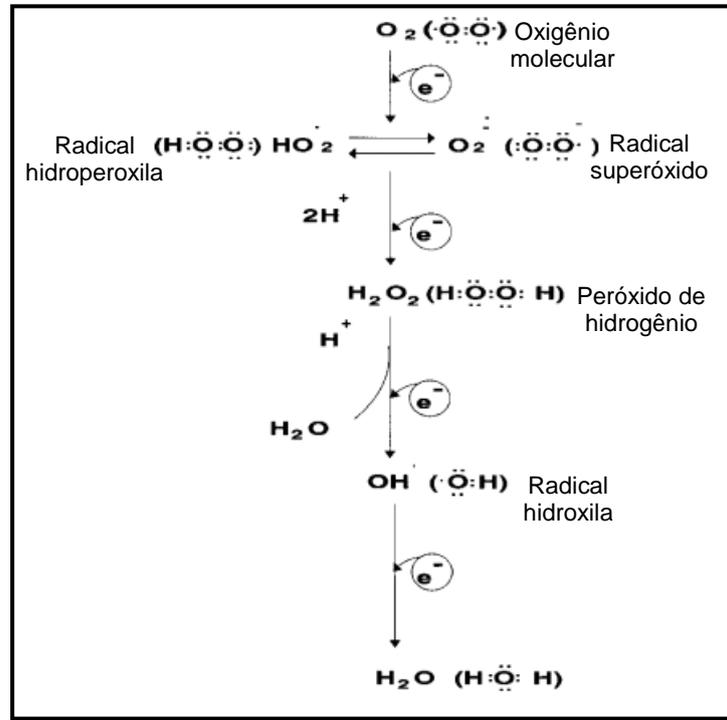
Os RLs podem ser definidos como átomos ou moléculas que contém um ou mais elétrons desemparelhados em seu orbital mais externo, sendo que o número ímpar de elétrons os tornam muito instáveis e reativos, podendo abstrair elétrons de outros compostos para obterem a sua estabilidade. Os RLs podem ser derivados de fontes endógenas e produzidos em peroxissomos, mitocôndrias, células fagocíticas e retículo endoplasmático, como também por resultado da exposição a fatores ambientais como a fumaça do cigarro, poluentes, álcool, metais pesados, pesticidas, solventes industriais e a exposição a certos fármacos (BIRBEN et al., 2012; PHANIENDRA; JESTADI; PERIYASAMY, 2015). Quando ocorre uma sobrecarga na produção de RLs prejudicando o seu processamento gradual ou quando a disponibilidade de antioxidantes é baixa, o acúmulo de oxidantes no organismo gera um fenômeno denominado estresse oxidativo (PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008; SIMIONI et al., 2018).

Os tipos de RLs mais comuns englobam as EROs e as espécies reativas de nitrogênio (ERNs) que devido as suas características podem desempenhar um papel duplo, podendo ser benéficos desempenhando funções fisiológicas importantes, ou prejudiciais ao organismo causando danos celulares extensos (KALUDERCIC; GIORGIO, 2016; PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008). As EROs são moléculas altamente reativas e podem participar de reações em cadeia, no qual um evento de iniciação de RLs pode ser propagado e capaz de danificar e causar alteração de função em estruturas celulares como carboidratos, proteínas, lipídios e no DNA (BIRBEN et al., 2012; JONES, 2008)

As EROs são subprodutos do metabolismo aeróbico normal e apresentam em sua estrutura um átomo de oxigênio com um elétron desemparelhado, com propriedades químicas inerentes (BAK; ROSZKOWSKI, 2013; HO et al., 2013). Dentro do organismo, vários processos bioquímicos diferentes podem originar as EROs, incluindo: a redução do oxigênio durante a respiração celular, produção de ácido hipocloroso a partir de fagócitos ativados, oxidação de catecolaminas e a ativação de elétrons a partir do produto de degradação da cascata do ácido araquidônico podem reduzir o oxigênio molecular em superóxido (BETTERIDGE, 2000).

A mitocôndria gera ATP através de vários processos de fosforilação oxidativa, sendo, portanto, a organela celular responsável pela produção de EROs (RAHAL et al., 2014). As três principais EROs incluem o ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e radical hidroxila ( $\cdot OH$ ) (AGARWAL; GUPTA; SHARMA, 2005), mas também são encontrados no organismo as ERNs, enxofre, ferro e cobre (AYKAC; OZSUREKCI, 2016). O radical  $O_2^{\cdot-}$  é formado quando a transferência de elétrons ao longo da cadeia respiratória é ineficiente ocorrendo vazamento de elétrons para o oxigênio molecular. O radical  $O_2^{\cdot-}$  é desintoxicado pela enzima superóxido dismutase resultando na formação de  $H_2O_2$  o qual é menos reativo. O desequilíbrio entre o radical  $O_2^{\cdot-}$  e o  $H_2O_2$  pode resultar na formação do íon  $\cdot OH$ , o qual é altamente reativo (BURTON; JAUNIAUX, 2011). Na figura 1, é demonstrado o processo de formação das EROs.

Figura 1 – Formação de EROs a partir da redução do oxigênio molecular até a formação de água.



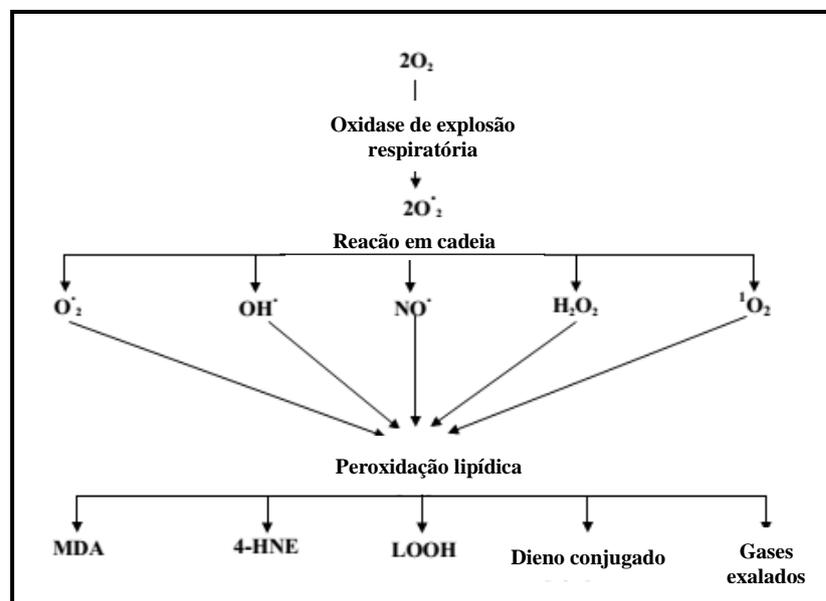
Fonte: Adaptação de COHEN (1989).

Em níveis baixos ou moderados as EROs podem ser benéficas para a função imunológica e resposta celular, porém em altas concentrações, são capazes de danificar estruturas celulares (PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008), sendo que os componentes celulares mais susceptíveis a danos são os lipídios presentes nas membranas celulares, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2003). Diversas maneiras podem levar a modificação do DNA a partir das EROs, como a degradação das bases, quebra da molécula de DNA de cadeia simples ou dupla, pirimidinas, purinas, modificações relacionadas ao açúcar, deleções ou translocações, interligação com proteínas e mutações. A grande maioria destas modificações que acometem o DNA são importantes para o desenvolvimento de doenças como a carcinogênese, doenças neurodegenerativas e autoimunes, envelhecimento e doenças cardiovasculares (BIRBEN et al., 2012).

Os ácidos graxos poliinsaturados são um dos principais alvos das EROs, sendo o radical  $\text{O}_2^{\cdot -}$ , radical  $\text{OH}^{\cdot}$  e radical alquilperoxila ( $^{\cdot}\text{OOCR}$ ) potentes iniciadores do processo de peroxidação lipídica (RAHAL et al., 2014). Ao abstrair o hidrogênio do

ácido graxo poliinsaturado da membrana celular, o lipídio fica com um elétron desemparelhado e isto leva a uma reação em cadeia com outras biomoléculas. Uma variedade de produtos da peroxidação lipídica são formados, como o malondialdeído (MDA), 4-hidroxinonenal (4-HNE), lipídico hidroperóxido (LOOH), isoprostanos, dienos conjugados, DNA lipídico, aduto de proteína lipídica, pigmentos de lipofuscina e gases exalados (ARORA; VIG; ARORA, 2013). Estes produtos podem ser dosados em plasma e urina como índice indireto de estresse oxidativo (KURUTAS, 2016). A figura 2, demonstra o processo de peroxidação lipídica com seus produtos de reação.

Figura 2 – Processo de peroxidação lipídica.



Fonte: Adaptação de ARORA; VIG; ARORA (2013). O<sub>2</sub>: oxigênio molecular; O<sub>2</sub><sup>•</sup>: radical superóxido; OH<sup>•</sup>: radical hidroxil; NO<sup>•</sup>: óxido nítrico; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: peróxido de hidrogênio; <sup>1</sup>O<sub>2</sub>: oxigênio singlete; MDA: malondialdeído; 4-HNE: 4-hidroxinonenal; LOOH: hidroperóxido lipídico.

Um dos principais produtos da peroxidação lipídica é o MDA que pode ser estimado pelo ensaio de TBARS (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) em diferentes materiais biológicos como plasma e eritrócitos (DOTAN; LICHTENBERG; PINCHUK, 2004). O MDA é um dos biomarcadores mais utilizados por ser um dos produtos da peroxidação lipídica mais conhecidos. O método para fazer a sua identificação é baseado na reação do MDA com o ácido tiobarbitúrico, que forma um complexo colorido que pode ser quantificado por cromatografia líquida de alta

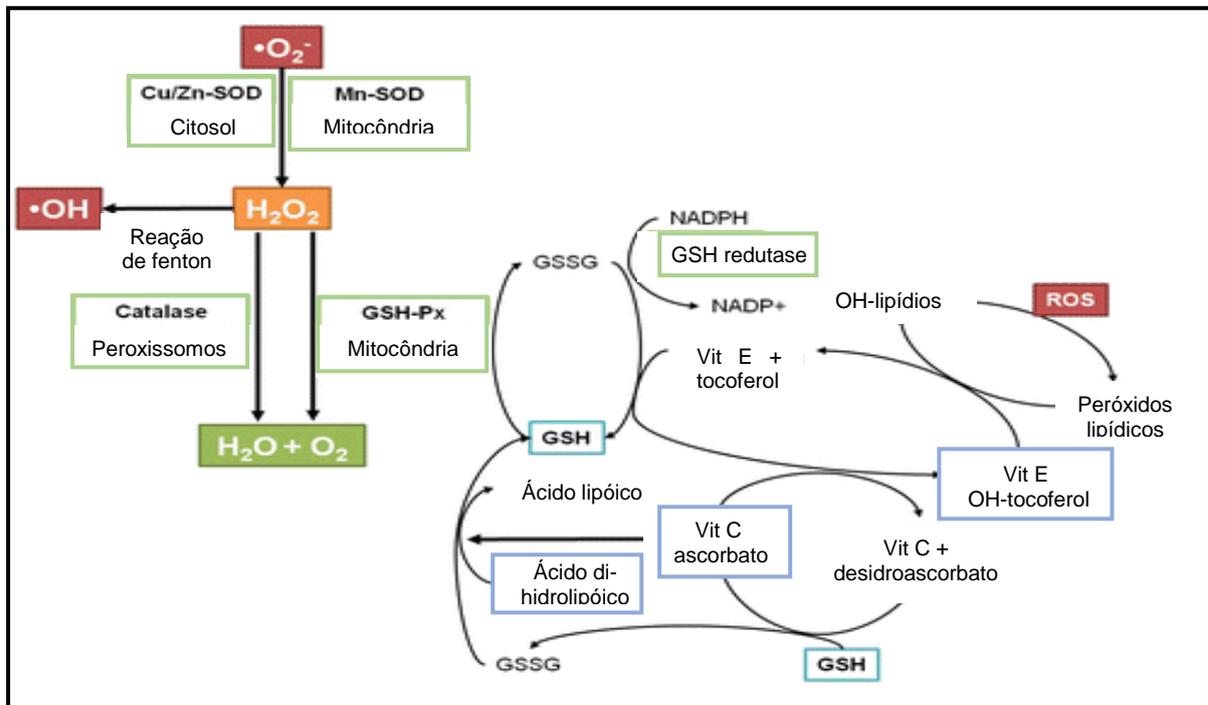
eficiência ou espectrofotometria, ambos com a detecção na região visível (GROTTO et al., 2008).

O óxido nítrico (ON) é um mediador biológico sintetizado a partir da L-arginina por ação da óxido nítrico sintase (CHOI; IM.; PAI, 2002) e pode desempenhar várias funções em mecanismos de sinalização intracelular e extracelular (BEEVI; RASHEED; GEETHA, 2004), sendo responsável por regular o tônus e fluxo vascular através da ativação da guanilato ciclase solúvel no músculo liso vascular (LUIKING et al., 2010). Como o ON é produzido por diversos tipos celulares, está envolvido na regulação de diversos processos patológicos e fisiológicos, como no metabolismo e na inflamação (CHOI; IM.; PAI, 2002). Em altas concentrações o ON tem efeitos tóxicos para as células, pois reage com o oxigênio e o  $O_2^{\cdot-}$  formando o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) que gera o radical  $\cdot OH$ . A reação do ON com o  $H_2O_2$  resulta na produção do oxigênio singlete, assim como a reação do ON com o oxigênio molecular resulta em dióxido de nitrogênio ( $NO_2$ ) e trióxido de dinitrogênio ( $N_2O_3$ ) que são importantes espécies reativas que causam injúria celular (ALI; HAMDY; MOHAMED, 2012).

Para inibir o ataque oxidante, sistemas antioxidantes altamente complexos que incluem antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos são requeridos pelo organismo (BURTON; JAUNIAUX, 2011) e são capazes de agirem de forma sinérgica interagindo uns com os outros, para proteger as células contra o ataque dos RLs (KURUTAS, 2016). As defesas antioxidantes são capazes de inibir o ataque oxidante, reduzindo a iniciação ou a propagação de lesões induzidas por EROs (CHITRA; MATHANGI; JOHNSON, 2016).

Os antioxidantes enzimáticos incluem a superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GSH-Px), glutatona redutase (GR) e catalase, já os antioxidantes não-enzimáticos são divididos em antioxidantes hidrossolúveis e lipossolúveis. Os antioxidantes hidrossolúveis da fase aquosa do plasma incluem a vitamina C, transferrina, tióis proteicos, albumina, bilirrubina, ácido úrico, ceruloplasmina, cisteína, glutatona e taurina, e os antioxidantes lipossolúveis que se encontram associados com as lipoproteínas são o tocoferol, b-caroteno, ubiquinol, e outros oxicarotenoides e carotenoides (CINKAYA et al., 2010). Alguns antioxidantes são produzidos pelo metabolismo normal do organismo como a glutatona, ácido úrico e ubiquinol já outros são obtidos a partir da dieta, como as vitaminas e o B-caroteno (LOBO et al., 2010). Na figura 3, são apresentados os diferentes mecanismos antioxidantes e suas interações.

Figura 3 – Defesas antioxidantes do organismo.



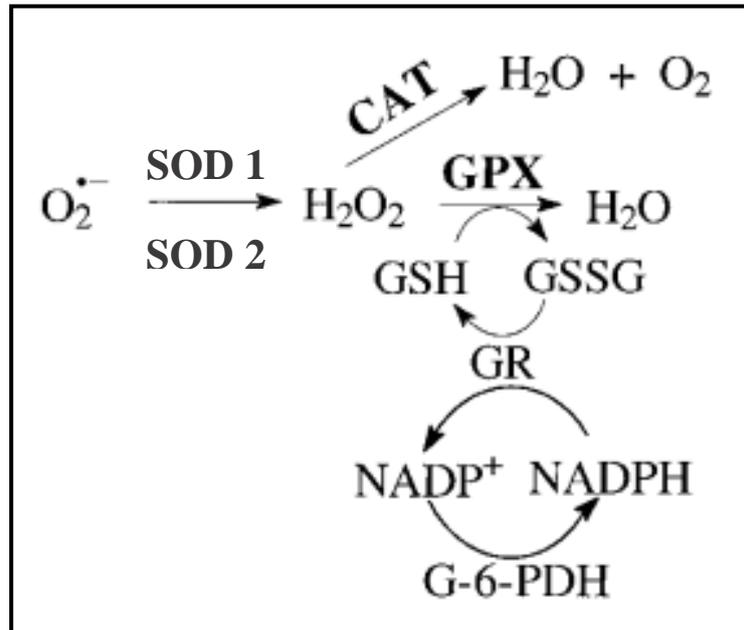
Fonte: Adaptação de KURUTAS (2016).  $\cdot\text{O}_2^-$ : radical ânion superóxido; Cu: cobre; Zn: zinco; Mn: manganês;  $\text{H}_2\text{O}_2$ : peróxido de hidrogênio;  $\cdot\text{OH}$ : radical hidroxila;  $\text{H}_2\text{O}$ : água;  $\text{O}_2$ : oxigênio; GSH-Px: glutationa peroxidase; SOD: superóxido dismutase; GSH: glutationa reduzida; GSSG: glutationa oxidada; NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; ROS: espécies reativas de oxigênio.

Os antioxidantes enzimáticos mais destacados são a SOD, GSH-Px e catalase (JEEVA et al., 2015) e os seus mecanismos de eliminação de RLs incluem a ação de enzimas que limitam a concentração celular de EROs e previnem danos oxidativos (LEKHARU et al., 2014).

A SOD é considerada a primeira linha de defesa contra os EROs, pois converte cataliticamente o radical  $\text{O}_2^{\cdot-}$  em  $\text{H}_2\text{O}_2$ . A SOD 1 é uma proteína dimérica localizada no citoplasma e contém Cobre e Zinco, já a SOD2 é uma proteína homotetramérica composta por manganês presente na mitocôndria (GARREL; FOWLER; AL-GUBORY, 2010). A enzima catalase presente no peroxissoma e a GSH-Px encontrada no citoplasma e na mitocôndria são capazes de converter o  $\text{H}_2\text{O}_2$  formado em água. Para desempenhar a sua função a GSH-Px necessita de várias enzimas secundárias como a GR (glutationa redutase) e a G-6-PDH (glicose 6 fosfato desidrogenase) e cofatores (GSH, NADPH e glicose 6-fosfato), onde as enzimas secundárias GR e G-6-PDH

envolvidas nesse processo são consideradas antioxidantes secundários pois não atuam diretamente nas EROs mas permitem a ação da GSH-Px. (LI et al., 2000). A figura 4, representa a ação destas enzimas antioxidantes a partir do radical  $O_2^{\bullet-}$ .

Figura 4 – Ação das enzimas SOD, GPX e catalase no sistema antioxidante.



Fonte: Adaptação de LI (2000).  $O_2^{\bullet-}$ : radical superóxido; SOD: superóxido dismutase;  $H_2O_2$ : peróxido de hidrogênio; CAT: catalase;  $H_2O$ : água;  $O_2$ : oxigênio; GPX: glutatona peroxidase; GSH: glutatona reduzida; GSSG: glutatona oxidada; GR: glutatona redutase; NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato; G-6-PDH: glicose-6 fosfato desidrogenase.

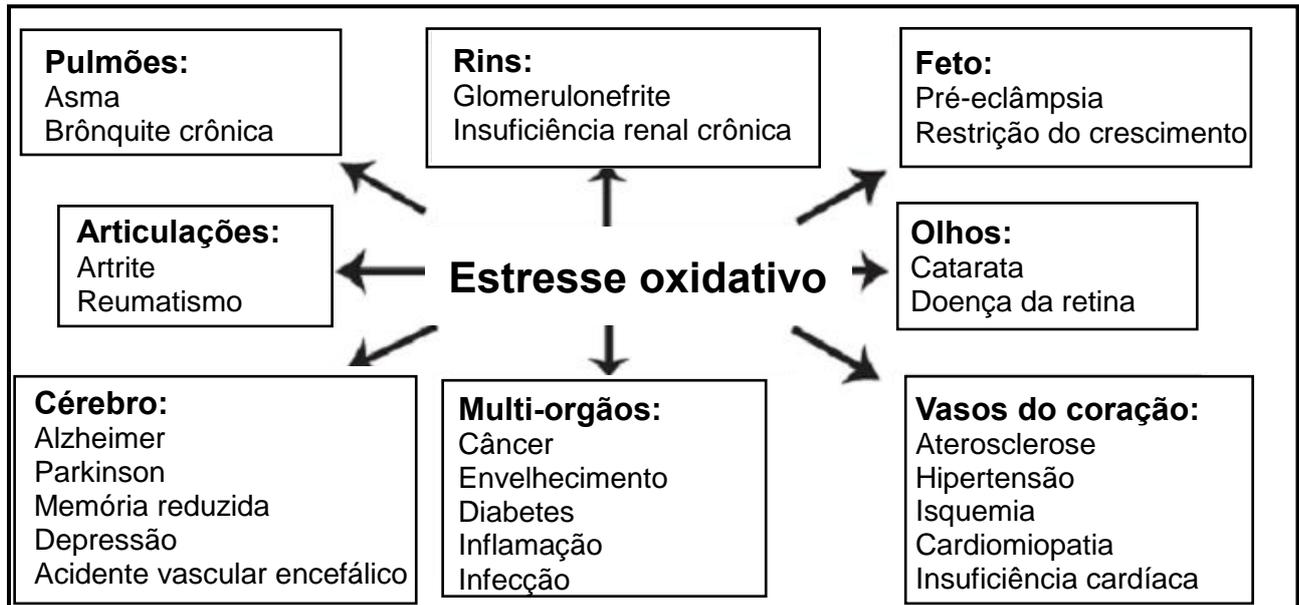
Os antioxidantes não enzimáticos incluem a vitamina C e E, melatonina, flavonoides, carotenoides, antioxidantes tióis (glutatona, tioredoxina e ácido lipóico), entre outros compostos (KURUTAS, 2016). As vitaminas C e E são antioxidantes exógenos, portanto, dependentes da ingestão dietética e desempenham funções importantes auxiliando os antioxidantes endógenos a atuarem contra o estresse oxidativo (PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008). A vitamina C é capaz de interromper a propagação do processo peroxidativo além de reciclar a vitamina E oxidada (AGARWAL; GUPTA; SHARMA, 2005) e aumentar os níveis de glutatona na célula, protegendo os grupos tióis proteicos da oxidação. Por ser um importante agente redutor, a vitamina C também é capaz de reduzir EROs como o  $H_2O_2$  (KURUTAS, 2016). A vitamina E envolve um conjunto de 8 tocoferóis e tocotrienóis, os quais são vitaminas lipossolúveis com importante ação antioxidante. O  $\alpha$ -tocoferol tem sido

relatado como o mais importante, pois reage com radicais lipídicos produzidos durante a peroxidação lipídica, removendo intermediários e impedindo que prossiga a reação de propagação (LOBO et al., 2010).

O poder antioxidante redutor do ferro (FRAP) baseia-se na redução dos íons férricos em ferrosos, pela ação de uma amostra com potencial redutor (FERRARI, 2010), sendo um método rápido e inovador para medir a capacidade de redução férrica do plasma (YADAV; SAINI, 2016). Uma menor quantidade de FRAP no organismo indica uma menor capacidade de ligação da ferritina ao ferro, portanto, uma maior quantidade de ferro fica livre e é capaz de catalisar a geração de radicais OH• por meio de reações como de Fenton e Haber-Weiss (BARBOSA, 2010).

O estresse oxidativo é um processo complexo e o seu impacto no organismo depende de fatores como o tipo de oxidante, intensidade, composição e local de produção dos RLs e das atividades de reparo dos antioxidantes (RAHAL et al., 2014). Evidências crescentes mostram que o estresse oxidativo está relacionado a mecanismos fisiopatológicos de múltiplas doenças humanas agudas e crônicas (KURUTAS, 2016) como a aterosclerose, diabetes, artrite reumatóide, doenças inflamatórias, doenças cardiovasculares, distúrbios neurológicos, doenças degenerativas, doenças relacionadas ao tabagismo e alguns tipos de câncer, entre outros (LOBO et al., 2010; UTTARA, et al. 2009). São demonstradas algumas doenças relacionadas ao dano oxidativo em diversos órgãos (Figura 5).

Figura 5 – Doenças relacionadas ao estresse oxidativo.



Fonte: Adaptação de PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY (2008).

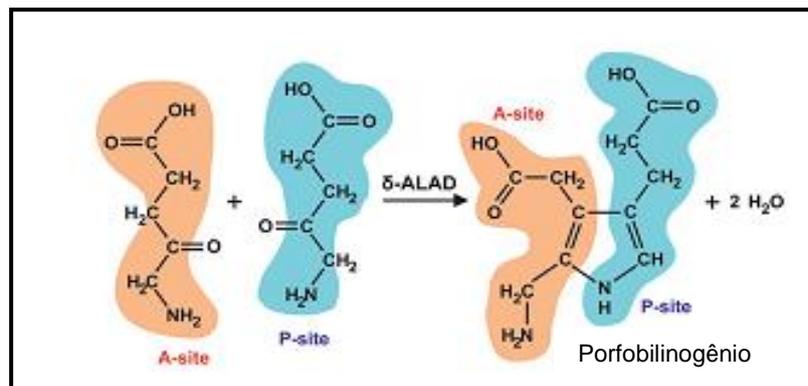
O estresse oxidativo também está envolvido em mecanismos relacionados ao desenvolvimento de problemas gestacionais como a pré-eclâmpsia e restrição do crescimento fetal, causando o aumento dos produtos de peroxidação lipídica (F2-isoprostanos, MDA) sendo, portanto sugerido que as EROs e ERNs estão envolvidas na etiologia dessas doenças (PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008).

Estudos básicos e experimentais tem sido realizados para elucidar os mecanismos envolvidos do estresse oxidativo em doenças humanas, bem como a investigação de possíveis marcadores de estresse oxidativo (ICHIISHI; LI; IORIO, 2016). Um biomarcador útil clinicamente deve ser específico para determinada doença, e útil para determinar o diagnóstico, além de estar relacionado com a atividade da doença e ter um valor prognóstico (LIGUORI et al., 2018). Atualmente, achados positivos com biomarcadores precisam ser elucidados com um tamanho amostral maior e comparados com padrões clínicos atuais do paciente para então serem utilizados para fins de diagnóstico. Devido aos fatores expostos anteriormente, o estresse oxidativo é um fenômeno difícil de caracterizar, sendo necessário uma ampla investigação afim de selecionar um biomarcador ideal (FRIJHOFF et al., 2015).

### 1.1.2 Enzima Delta-Aminolevulinato desidratase

A enzima  $\delta$ -ALA-D é uma metaloenzima essencial para a biossíntese do grupamento heme (BRITO et al., 2011). A enzima  $\delta$ -ALA-D é responsável por catalisar a condensação assimétrica de duas moléculas de ALA com perda de duas moléculas de água para formar o porfobilinogênio monopirrólico (PBG), conforme ilustrado na figura 6. Em etapas subsequentes, o PBG é montado em moléculas tetrapirrólicas, que constituem os grupos prostéticos de proteínas fisiologicamente significativas tais como hemoglobina, os citocromos e enzimas como a catalase (BONFANTI et al., 2011).

Figura 6 – Síntese de PBG a partir de dois compostos de ALA.



Fonte: Adaptação de ROCHA et al., (2012).

A enzima  $\delta$ -ALA-D apresenta em sua estrutura grupos sulfidríla que é dependente de zinco para exercer sua função catalítica e possui um pH ideal na faixa de 6,3-7,1 (ROCHA et al., 2012; SHEMIN, 1976). Devido ao fato da enzima  $\delta$ -ALA-D conter grupamentos sulfidríla em sua estrutura que são altamente sensíveis a oxidação provocando redução da sua atividade, a enzima tem sido proposta como um marcador de estresse oxidativo (VALENTINI et al., 2007). Compostos que oxidam grupos tiólicos ou que competem pelo sítio de ligação do zinco podem interferir na atividade da enzima (ROCHA et al., 2012). A exposição ao oxigênio molecular ou a outros agentes oxidantes como produtos químicos (chumbo, mercúrio, alumínio, selênio, bromobenzeno, estireno e tricloroetileno) também podem provocar a inibição da enzima  $\delta$ -ALA-D, resultando em redução da sua atividade e consequentemente,

prejudicando a síntese do grupamento heme (TAHA et al., 2015; PIVETTA et al., 2005).

Com a inibição da atividade da enzima ocorre o acúmulo de seu substrato ALA no sangue que em pH fisiológico sofre auto-oxidação contribuindo para a produção de EROs, em especial  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$  contribuindo para lesões oxidativas em células (ROCHA et al., 2012; SOUZA et al., 2007; VALENTINI et al., 2007). O índice de reativação da enzima pode ser determinado através da incubação com o agente ditioneitol (DTT) que é responsável por reverter à atividade da  $\delta$ -ALA-D por manter em estado reduzido os grupos tióis da enzima, fornecendo assim um índice de reativação (ROCHA et al., 2012), que permite verificar o quanto a atividade enzimática estava inibida e predispondo a lesões oxidativas.

Várias patologias estão relacionadas a inibição da enzima  $\delta$ -ALA-D que em conjunto com outros marcadores de estresse oxidativo pode desempenhar um papel importante em diversas morbidades como pré-eclâmpsia em gestantes (DE LUCCA et al., 2016), diabetes (BONFANTI et al., 2011) e obesidade (BRITO et al., 2011). O aumento do índice de reativação desta enzima já foi relacionado com o estresse oxidativo na presença de lesões pré-malignas no colo uterino (GONÇALVES et al., 2005).

### **1.1.3 Trabalho de parto e estresse oxidativo**

O parto normal é um processo fisiológico no qual ocorre a expulsão do feto pelo útero, acompanhado pelo trabalho de parto caracterizado por contrações uterinas e dilatação cervical progressiva sendo um processo multifatorial que leva a mudanças graduais em tecidos maternos (KOTA et al., 2013). No ano de 2017 foram realizados 2,7 milhões de partos no Brasil, sendo que no sistema único de saúde (SUS) o número de partos normais correspondeu a 58,1% e de cesarianas a 41,9% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

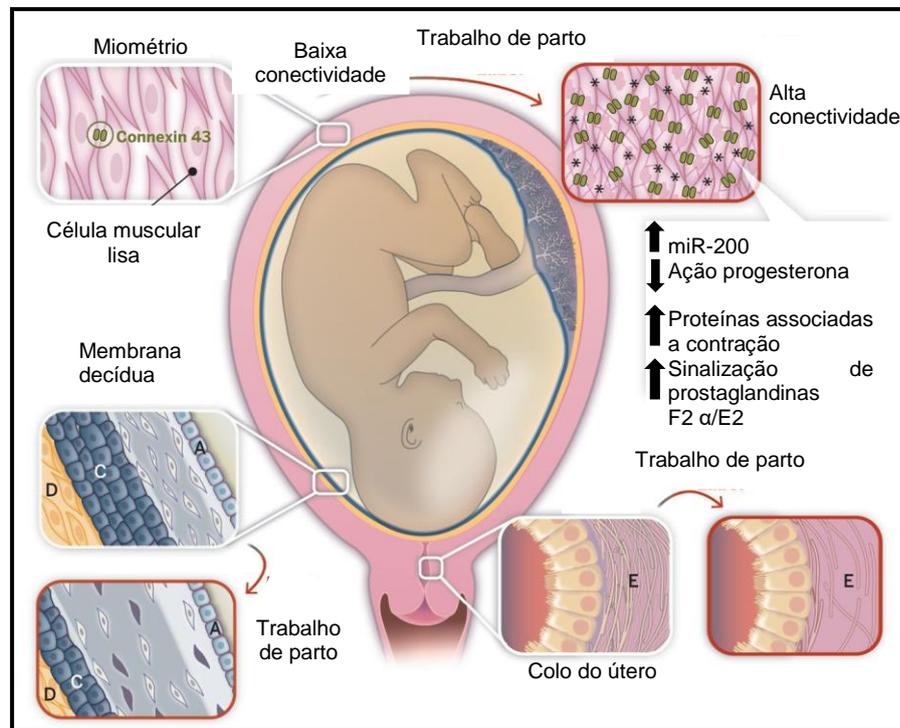
Friedman (1954) foi o primeiro a caracterizar e a dividir o processo de trabalho de parto em várias fases e estágios. O primeiro estágio do trabalho de parto é composto de duas fases. A fase latente é caracterizada por apresentar lenta taxa de dilatação cervical e contrações irregulares e a fase ativa é caracterizada por contrações regulares com dilatação do colo uterino  $>4$  cm até a dilatação completa (HANLEY et al., 2016; HILDINGSSON et al., 2015). A duração da fase ativa do

trabalho de parto apresenta diferenças entre gestantes primíparas e múltiparas, podendo durar em média 8 horas nas primíparas e 5 horas nas múltiparas (BRASIL, 2016). O segundo estágio do trabalho de parto envolve a fase de expulsão do feto após a dilatação completa até o nascimento (HILDINGSSON et al., 2015).

Vários fatores podem influenciar a DTP como o peso materno e fetal, paridade e intervenções na analgesia do parto, tornando um desafio a sua mensuração. Apesar da dificuldade da definição, o conhecimento dos limites aceitáveis de DTP e taxas de dilatação cervical são importantes na tomada de decisão em um cenário intraparto (NEAL et al., 2010). O início adequado do trabalho de parto é outro fator importante para o resultado perinatal, pois tanto a prematuridade (início do trabalho de parto com <37 semanas) quanto a gravidez pós-termo (gravidez continuada após 42 semanas) já foram relacionadas com complicações como aumento da morbidade e mortalidade perinatal (KOTA et al., 2013).

O trabalho de parto a termo e prematuro são caracterizados por aumento da contração miometrial, dilatação cervical e ruptura das membranas corioamnióticas, e para que todos estes processos ocorram são necessárias mudanças importantes no sistema reprodutivo feminino. Em primeiro lugar o útero que estava em situação de repouso passa a ser um órgão ativo de contração, com o entrelaçamento de componentes musculares, resultando em contrações fasicas e regulares, e este fato está associado a uma mudança na isoforma do receptor de progesterona nuclear e ao aumento da expressão do miR-200 e do receptor de estrogênio. O feto por sua vez gerencia esta mudança por meio da produção de hormônios esteroides placentários. A segunda mudança é a dilatação do tecido conjuntivo cervical para a passagem do feto. O amadurecimento cervical é mediado por alterações na barreira epitelial e nas proteínas da matriz extracelular (ROMERO; DEY; FISHER, 2014). A ativação da membrana decídua ocorre na preparação para a ruptura da membrana com o objetivo de facilitar a separação das membranas corioamnióticas e a placenta do útero. A Figura 7, demonstra as alterações fisiológicas envolvidas no trabalho de parto.

Figura 7 – Alterações fisiológicas que ocorrem durante o trabalho de parto.



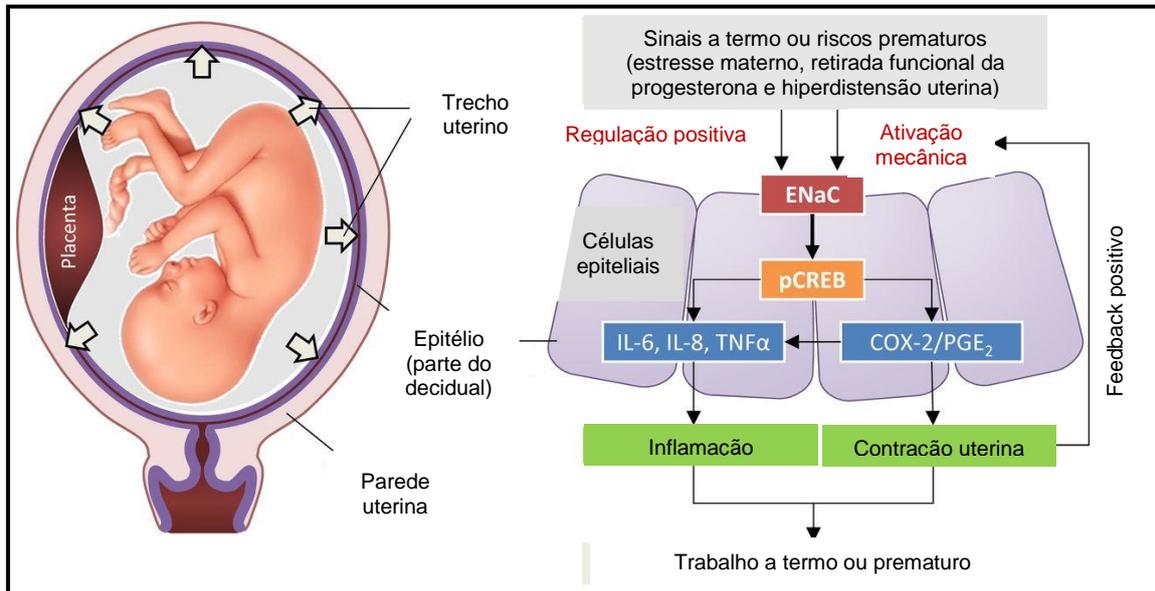
Fonte: Adaptação de ROMERO; DEY; FISHER (2014).

Durante o trabalho de parto, fisiologicamente ocorre o aumento da exposição ao oxigênio e conseqüentemente a formação de EROs que podem ser prejudiciais ao organismo (NEJAD et al., 2016). O estresse oxidativo fica mais pronunciado, pois ocorre um aumento da demanda de energia e atividade metabólica devido às contrações poderosas tanto do músculo liso quanto do esquelético (NOH et al., 2014). Estas contrações poderosas aumentam a produção de RLs por alterar o fluxo sanguíneo no músculo e conseqüentemente leva à um aumento no consumo de oxigênio. Essa alteração é causada por uma descontínua hipoperfusão uteroplacentária causando ciclos alternados de isquemia e reperfusão levando à uma mudança na pressão parcial de oxigênio no músculo (CASTRO et al. 2015). Como conseqüência desta reoxigenação tecidual são produzidas EROs, fato este que explica porque mães e fetos com segunda etapa de trabalho de parto prolongado apresentam alterações em parâmetros de estresse oxidativo como peroxidação lipídica e atividade proteolítica (RAO et al., 2003).

Sabe-se que o trabalho de parto tem um papel importante na expressão da resposta inflamatória e também na resposta ao estresse oxidativo. Um fator importante que contribui com o aumento de EROS durante o trabalho de parto é a inflamação. O parto tem sido apontado como uma fonte de mediadores pró-inflamatórios como citocinas e metabólitos do ácido araquidônico, onde estes mediadores estimulam a produção de EROS, e por outro lado, os RLs formados convocam sinalizadores inflamatórios formando assim um ciclo vicioso (CASTRO et al., 2015). As citocinas como as interleucinas (IL-1 $\beta$ , IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) estimulam a síntese de prostaglandinas durante o parto normal que por sua vez estimulam a contração do miométrio e a dilatação do colo uterino. Já por outro lado as citocinas podem alterar a imunidade do feto através da regulação de funções biológicas como a expressão de moléculas de adesão e fagocitose (HU et al., 2017; MALAMITSI-PUCHNER, et al., 2005).

O parto normal e o parto prematuro estão associados ao estresse oxidativo, sendo que o desequilíbrio oxidativo já foi relatado em compartimentos maternos e fetais, e tanto o trabalho de parto curto quanto o pós-termo já foram associados a complicações (GUNNARSSON et al., 2017). A relação do estresse oxidativo com o mecanismo fisiológico que leva ao início do trabalho de parto ainda não está elucidado (MENON, 2014). Recentemente tem se demonstrado o papel do ENaC (canal de sódio epitelial) durante o trabalho de parto a termo e pré-termo. Os sinais de trabalho de parto ou fatores de risco de parto prematuro podem ativar o ENaC que está presente em células epiteliais que revestem a cavidade uterina, resultando na fosforilação pCREB que por sua vez regula positivamente as IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-8 e COX-2 e PGE2 alterando o estado inflamatório e provocando contração do útero para o início do trabalho de parto. O ENaC tem sido estudado como um importante alvo para a prevenção e tratamento do trabalho de parto prematuro (SUN et al., 2018). Na figura 8, está representado o mecanismo do ENaC durante o trabalho de parto.

Figura 8 – Mecanismo pelo qual ENaC induz o início do trabalho de parto a termo ou pré-termo.



Fonte: Adaptação de SUN X. et al. (2018). ENaC: canal de sódio epitelial; IL-6: interleucina 6; IL-8: interleucina 8; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral; COX-2: ciclooxigenase 2; PGE $_2$ : prostaglandina E $_2$ .

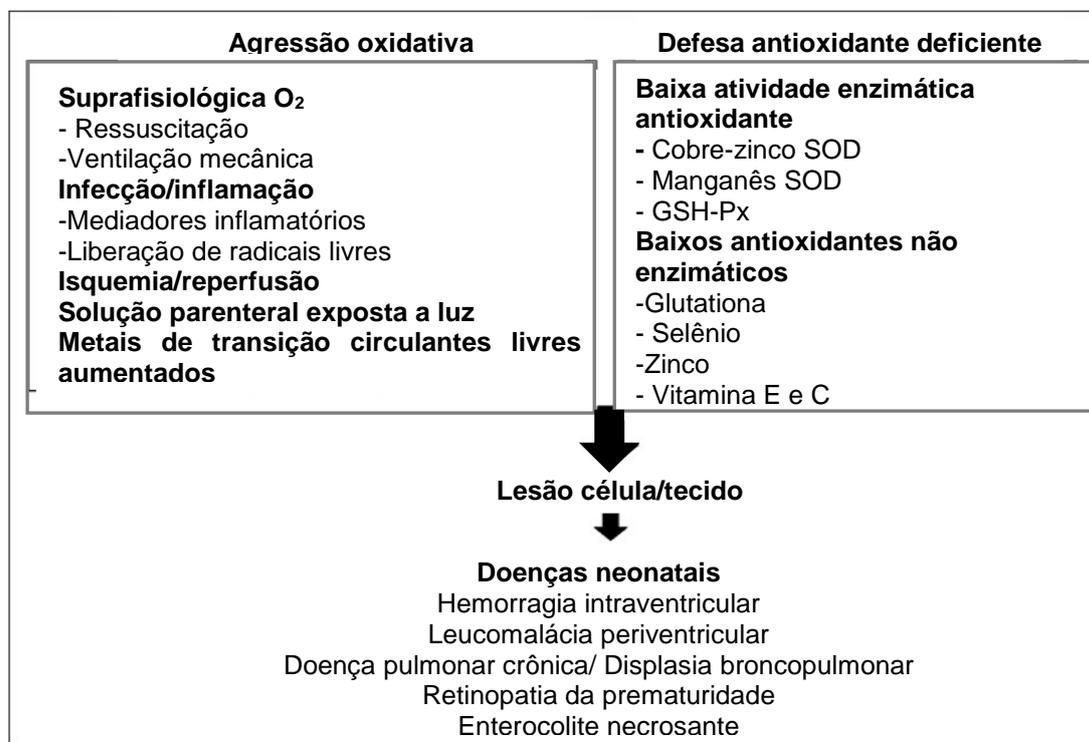
#### 1.1.4 Estresse oxidativo em neonatos

Níveis aumentados de EROs e reduzida capacidade antioxidante podem colaborar para a patogênese no período perinatal (ERDEM et al., 2012). Os recém-nascidos, especialmente os prematuros, são susceptíveis ao estresse oxidativo devido a fatores como o desafio hipóxico-hiperóxico a que são submetidos no nascimento, infecções especialmente em prematuros, deficiência do sistema de defesa antioxidante e altos níveis de ferro livre que causam um aumento da reação de fenton, que leva a produção do radical OH $\cdot$  (AYKAC; OZSUREKCI, 2016). As altas taxas de mudanças metabólicas e a natureza em rápido crescimento dos tecidos neonatais também favorecem o quadro de estresse oxidativo predispondo a patologias em neonatos (AYKAC; OZSUREKCI, 2016; WEBER et al., 2014).

O desfecho dos danos provocados pode se estender além do período perinatal e incluir transtornos de neurodesenvolvimento (hiperatividade com déficit de atenção, problemas motores e cognitivos e transtornos psicóticos), resistência à insulina, asma, hipertensão, diabetes mellitus, acidente vascular cerebral e doença coronariana (BUONOCORE; PERRONE; TATARANNO, 2010). Vários estudos relacionam os

prejuízos decorrentes de RLs com patologias em recém-nascidos (PERRONE et al., 2007), sendo que o estresse oxidativo parece ser um fator contribuinte para a patogênese de doenças neonatais como displasia broncopulmonar, leucomalácia periventricular, síndrome do desconforto respiratório, persistência do canal arterial, enterocolite necrosante e retinopatia da prematuridade (AYKAC; OZSUREKCI, 2016), conforme representado na figura 9.

Figura 9 – Fatores que favorecem os recém-nascidos a doenças mediadas por RLs e as doenças relacionadas.



Fonte: Adaptação de TRINDADE;RUGOLO (2007). SOD: superóxido dismutase; GSH-Px: glutathiona peroxidase.

Os diferentes modos de entrega (parto normal ou cesárea) e variáveis como a idade materna, paridade, sexo do bebê, DTP e nutrição materna podem influenciar consideravelmente o estresse oxidativo materno e fetal (CHITRA; MATHANGI; JOHNSON, 2016). A associação do estresse oxidativo com o tipo de parto, seja parto vaginal ou cesárea não está bem elucidado na literatura, mas sabe-se que o modo de entrega pode refletir consideravelmente sobre o estado e saúde do recém-nascido (BISWAS et al., 2014; HRACSKO et al., 2007; MUTLU et al., 2012; SAPHIER et al., 2013). O trabalho de parto envolve uma série de contrações tanto no músculo liso

quanto o esquelético podendo ocasionar aumento do estresse oxidativo durante o parto vaginal em comparação com o parto cesáreo eletivo (NOH et al., 2014). Vários estudos relatam um quadro intenso de estresse oxidativo durante o parto normal na mãe e no recém-nascido, com aumento da produção de RLs que deveriam ser contidos pelo sistema antioxidante (CASTRO et al., 2015).

Durante o nascimento, a transição fetal para neonatal gera alterações fisiológicas complexas, em que o feto sai de um ambiente intra-uterino hipóxico com um  $PO_2$  de 20 a 25 mmHg e passa para um ambiente extrauterino com um  $PO_2$  de 100 mmHg contribuindo para a maior produção de EROs e o estresse oxidativo (GITTO et al., 2008). Os recém-nascidos necessitam de mecanismos antioxidantes complexos para se adaptar a troca de ambiente durante o nascimento, que consiste em vários compostos que visam destruir os RLs como a SOD, GSH-Px, catalase, vitamina C, ceruloplasmina, vitamina A, transferrina e vitamina E (PAUL, 2015).

A eficácia do mecanismo antioxidante no recém-nascido depende da transferência transplacentária materna que ocorre no final da gestação e da maturação do sistema antioxidante que ocorre a termo no neonato (CHITRA; MATHANGI; JOHNSON, 2016). Já foram demonstrados altos níveis de estresse oxidativo em mães que correspondiam com os níveis encontrados em seus neonatos durante o nascimento, sendo, que a modulação do estresse oxidativo na mãe poderia ser uma estratégia de modular o desequilíbrio oxidativo no neonato (ARGUELLES et al., 2005).

Durante a gestação, os antioxidantes, embora geneticamente determinados, podem se tornar insuficientes para conter a alta produção de RLs que ocorre fisiologicamente durante o desenvolvimento embrionário, fetal e placentário (WILINSKA et al., 2015). Resultados insatisfatórios da gestação como morte fetal, trabalho de parto prematuro e baixo peso ao nascer podem ser resultado de um sistema antioxidante materno deficiente, o qual não foi capaz de equilibrar a produção de RLs causando a peroxidação lipídica na placenta, refletindo sobre o neonato (GUBORY; FOWLER; GARREL, 2010). No nascimento, o sistema de pontuação Apgar é uma excelente maneira de avaliar a condição do neonato, através da verificação de cinco características que são facilmente identificadas como a frequência cardíaca, esforço respiratório, tônus muscular, irritabilidade reflexa e cor (SRIDHAR et al., 2007). Para se determinar o score de Apgar é atribuído um valor de 0 a 2 para cada uma das cinco características avaliadas, sendo realizado no tempo

de um e cinco minutos após o parto. A soma total dos cinco componentes de sete ou mais indica uma boa condição física do recém-nascido, no entanto, baixos escores estão associados a mortalidade neonatal (CASEY; MCINTIRE; LEVENO, 2001; SRIDHAR et al., 2007).

A amamentação continua sendo uma ferramenta essencial para auxiliar na proteção contra os RLs e estresse oxidativo, sendo preferível o leite fresco por apresentar a maior capacidade antioxidante (PADURARU et al., 2018). A nutrição com leite materno rico em antioxidantes é uma forma de proteger o neonato de diversas doenças, especialmente em prematuros, os quais são mais vulneráveis a infecções e inflamações devido à alta concentração de oxigênio a que são expostos no nascimento (ABUHANDAN et al., 2015).

O alto nível de antioxidantes presente no colostro materno pode ajudar a aliviar o estresse oxidativo em recém-nascidos que apresentam esse sistema deficiente e contribuir para o crescimento e desenvolvimento destes. Já foi relatado que o leite materno de mães de recém-nascidos com icterícia prolongada apresentava diminuição da atividade protetora antioxidante e aumento do estresse oxidativo (URAS et al., 2010). Quando o poder antioxidante materno diminui após o parto, é esperado uma diminuição no potencial antioxidante do leite materno, necessitando de um controle especial da saúde da mulher no período de lactação (KURAMOTO; KITAGAWA, 2017).

O papel do estresse oxidativo na patogênese de várias doenças neonatais é muito importante e há necessidade de mais investigações sobre este assunto (AYKAC; OZSUREKCI, 2016). A prevenção do estresse oxidativo por meio de abordagens antioxidantes no período neonatal parece ser uma forma de garantir um desenvolvimento saudável por toda a vida, pois já são conhecidos os reflexos do estresse oxidativo no início da vida (LAVOIE; TREMBLAY, 2018), sendo que os prejuízos podem se estender além do período perinatal (BUONOCORE; PERRONE; TATARANNO, 2010).

## 1.2 PROPOSIÇÃO

### 1.2.1 Proposição Geral

Este trabalho teve como objetivo verificar o perfil oxidativo, resposta antioxidante e a atividade da enzima  $\delta$ -ALA-D em sangue de cordão umbilical de neonatos de gestantes com diferentes tempos de duração de trabalho de parto. Além disso, investigar a associação da duração do trabalho de parto com o acometimento de morbidades em recém-nascidos.

### 1.2.2 Proposições Específicas

Em sangue de cordão umbilical, objetivou-se avaliar:

- A relação nitrato/nitrito (NOx) em soro;
- A peroxidação lipídica, através das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em plasma e eritrócito;
- Os protetores de estresse oxidativo: grupamentos tiólicos protéicos em plasma, a vitamina C em plasma e a capacidade redutora do ferro (FRAP) em soro;
- A atividade da enzima sulfidrílica delta-aminolevulinato desidratase ( $\delta$ -ALA-D), bem como seu índice de reativação;
- As possíveis correlações entre as variáveis através dos resultados obtidos;
- A associação dos parâmetros de estresse oxidativo com o acometimento de alterações neonatais por meio da análise do índice Apgar e peso ao nascer.

### 1.3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais e métodos que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de um manuscrito, o qual se encontra nessa dissertação. O manuscrito foi submetido para a avaliação na revista *Free Radical Research*. Os itens Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências Bibliográficas, encontram-se no próprio manuscrito.

**2 MANUSCRITO - Duration of labor interferes with markers of oxidative stress in umbilical cord blood of neonates**

Manuscrito submetido para a revista Free Radical Research

Silmara Ana Vendrame, Leidiane de Lucca, Hellen Lopes de Paula, Carolina dos Santos Stein, Monique Soares Paz, Tatiana Frehner Kavalco, Francisco Maximiliano Pancich Gallarreta, Rafael Noal Moresco, Thissiane de Lima Gonçalves

**Duration of labor interferes with markers of oxidative stress in umbilical cord  
blood of neonates**

Silmara Ana Vendrame<sup>a</sup>, Leidiane de Lucca<sup>a</sup>, Hellen Lopes de Paula<sup>a</sup>, Carolina dos Santos Stein<sup>a</sup>, Monique Soares Paz<sup>b</sup>, Tatiana Frehner Kavalco<sup>b</sup>, Francisco Maximiliano Pancich Gallarreta<sup>b</sup>, Rafael Noal Moresco<sup>a</sup>, Thissiane de Lima Gonçalves<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Department of Clinical and Toxicology Analysis, Center of Healthy Sciences, Federal University of Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brazil

<sup>b</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Federal University of Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brazil

Silmara Ana Vendrame: silmaravendrame@yahoo.com.br

Leidiane de Lucca: leidi\_lucca@hotmail.com

Hellen Lopes de Paula: hellen\_lopes89@hotmail.com

Carolina dos Santos Stein: stein.carolina@gmail.com

Monique Soares Paz: monimedicina@hotmail.com

Tatiana FrehnerKavalco:tfkavalco@hotmail.com

Francisco Maximiliano Pancich Gallarreta: fmgallarreta@msn.com

Rafael Noal Moresco: rnmoresco@ufsm.br

Thissiane de Lima Gonçalves: thissianegoncalves@yahoo.com.br

Corresponding author's contact information

Thissiane de Lima Gonçalves,

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas

Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil

Email: thissianegoncalves@yahoo.com.br

## Abstract

Delivery has been associated with increased oxidative stress, but its contribution to oxidative stress parameters in newborns during birth has not been elucidated. The objective was to determine, in umbilical cord blood of neonates, markers of oxidative stress present in different durations of labor of pregnant women. Blood samples were collected from the umbilical cord of healthy pregnant women who underwent normal delivery and were classified according to duration of labor (DOL) into two groups: a group with DOL less than 5 h (n = 33) and a group with DOL greater than 5 h (n = 35). Oxidative stress parameters were measured by quantification of nitrate/nitrite and thiobarbituric acid reactive substances, and the antioxidant system by sulfhydryl group, Vitamin C and plasma iron reduction capacity, in addition to the activity of the enzyme delta-aminolevulinate-dehydratase ( $\delta$ -ALA-D). The parameters evaluated, oxidative and antioxidants, were significantly higher in umbilical cord blood of neonates of pregnant women with longer DOL and enzyme activity  $\delta$ -ALA-D was to be decreased in the longest duration group. Umbilical cord blood from neonates undergoing longer labor presented increased oxidative stress markers compared to the shorter duration group. Thus, the longer labor time in this study, despite not being considered prolonged, resulted in greater oxidative stress in neonates compared to short duration and may be a contributing factor for diseases that were already related to stress in neonates.

Keywords: oxidative profile;  $\delta$ -ALA-D; childbirth; newborn; antioxidants.

## Introduction

The contraction of the uterine musculature during labor is able to increase the production of free radicals by altering the blood flow in the intervillous space by

installing a framework of oxidative stress [1–2]. The molecules involved in oxidative stress may become toxic to some cellular components, as they stimulate lipid peroxidation and inactivation of proteins, as well as causing structural modifications and functional modulation in nucleic acids affecting DNA [1]. The action of the antioxidant defense system is necessary to protect the body from the action of free radicals [3]; however, an imbalance between antioxidants and oxidants leads to tissue damage [4].

Oxidative stress has been considered as an agent causing various pregnancy disorders, such as recurrent pregnancy loss, embryonic reabsorption, preeclampsia, intrauterine growth restriction and fetal death, as well as unsatisfactory pregnancy outcomes such as miscarriage and work of preterm birth [5]. In newborns, the increase in free radicals can cause serious damage, as it damages the cell membrane causing lipid peroxidation [6], and this damage may be associated with several neonatal diseases, such as respiratory distress syndrome, bronchopulmonary dysplasia, periventricular leukomalacia, necrotizing enterocolitis, patent ductus arteriosus and retinopathy of prematurity [7].

Although the negative effects of oxidative stress on pregnancy, the fetus and the newborn are known, the effect of duration of labor (DOL) on the promotion of oxidative damage is unclear. We hypothesize that the duration of maternal labor interferes with parameters of oxidative stress in neonates, and may reflect on the outcome of pregnancy and childbirth. Thus, the objective of this study was to determine markers of oxidative stress in neonates at different times during labor.

## Materials and methods

### *Population study*

Umbilical cord blood was obtained from healthy and voluntary neonates aged 18 to 35 years who underwent spontaneous normal delivery at the obstetric center of the Hospital Universitário de Santa Maria, Rio Grande do Sul, RS, whose healthy full-term newborns had a gestational age of 37–42 weeks. The samples were divided into two groups according to duration of labor: group with DOL < 5 h (n = 33) and group with DOL > 5 h (n = 35). The study excluded the blood of neonates from pregnant women who had prolonged, chronic, smoking, obese, and infectious diseases, as well as their newborns. The pregnant women volunteers participating in the study signed a free and informed consent form and the study was approved by the Ethics Committee for Human Research at the Federal University of Santa Maria (CAAE: 61974816.3.0000.5346).

### *Sample collection*

Samples of whole umbilical cord blood were collected up to 5 min after vaginal delivery in tubes containing heparin and a tube without anticoagulant. From the whole blood, the plasma was obtained by centrifugation at 3000 rpm and the erythrocytes were washed with 0.9% sodium chloride. The serum was separated by centrifugation at 3000 rpm for 10 min and stored at –80 °C until analysis.

### *Determination of oxidizing substances*

Nitric oxide dosage was determined by the technique described by Tatschet et al. [8] in serum based on the accumulation of nitrite/nitrate (NO<sub>x</sub>) in the automated analyzer BS® 380 (Mindray, Shenzhen, China), and the results were presented in μmol / L. Lipid peroxidation was evaluated according to the method described by Lapenna et al. [9] in plasma and erythrocytes through the measurement of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). For the analysis, a standard curve with different concentrations of malondialdehyde (MDA) was used and the reaction product was measured spectrophotometrically at 532 nm and the results are expressed in nmol MDA / mL of plasma and in nmol MDA / mL of erythrocytes.

#### *Antioxidant analysis*

Protein thiol groups (P-SH) were quantified according to the Ellman and Boyne method [10] modified by Jacques-Silva et al. [11], which consists of the reduction of 5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) acid in phosphate buffer measured at 412 nm. The results are expressed in nmol of P-SH / ml. Vitamin C was quantified in plasma according to the method described by Galley et al. [12] with some modifications by Jacques-Silva et al. [11], where the orange-red compound formed was measured at 520 nm and the results expressed in μg vit C/ ml. Plasma iron ablation capacity (FRAP) was determined by the Benzie and Strain (1996) [13] technique in plasma on an automated analyzer BS® 380 (Mindray, Shenzhen, China) and the results expressed in μmol / L.

#### *Enzymatic activity*

The activity of the enzyme delta-aminolevulinate-dehydratase ( $\delta$ -ALA-D) was evaluated by the Berlin and Schaller method [14], in whole blood with heparin. The rate of formation of porphobilinogen (PBG) in 1 h at 37 °C, with the product of the reaction determined at 555 nm, was measured. The results are expressed as U/L (nmol PBG / h / mg Hb). The reactivation index of  $\delta$ -ALA-D was estimated using the equation:  $A - B/A \times 100$ , where A =  $\delta$ -ALA-D absorbance with dithiothreitol (DTT) and B =  $\delta$ -ALA-D absorbance without DTT.

### *Statistical analysis*

Statistical analysis of the data was performed using Graph Pad Prism® software, version 6.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). The Shapiro–Wilk test was used to assess normality. When the groups presented normal distribution, Student's test was used to compare the samples and the results presented as mean  $\pm$  standard deviation (SD). For non-parametric data, the Mann–Whitney test was used and the results expressed in median and interquartile range. The categorical variables are expressed as a percentage and compared using the chi-square test. Spearman correlation was applied to verify the relationship between DOL and oxidative and antioxidant parameters evaluated. Values of  $p < 0.05$  were considered statistically significant for all analyses.

### Results

Umbilical cord blood samples from 68 neonates of healthy mothers were included in the study, and maternal and neonatal clinical characteristics are shown in Table 1.

Primiparous had significantly longer DOL than multiparous. The other maternal parameters did not present significant differences, as well as the physical characteristics of the newborns evaluated by birth weight and the Apgar score.

The oxidative stress markers evaluated in umbilical cord blood presented differences according to DOL and are represented in Table 2. All parameters evaluated, both oxidative (NOx and TBARS in plasma and erythrocytes) and antioxidants (P-SH, Vitamin C and FRAP) were significantly elevated in newborns with longer DOL.

With regard to the activity of the  $\delta$ -ALA-D enzyme, there was a decrease in activity in neonates with greater DOL and the rate of enzymatic reactivation was also significantly higher in this group (Figure 1).

Significant correlations between the evaluated parameters are shown in table 3. DOL was positively correlated with TBARS plasma, TBARS erythrocytes, FRAP and vitamin C. In addition, there was a positive correlation between TBARS plasma and TBARS erythrocytes and between TBARS plasma with P- SH and vitamin C. There was also a positive correlation between FRAP and vitamin C.

## Discussion

Labor, due to several factors, is a process that can cause oxidative imbalance [15]. It has been reported that prolonged labor increases the induction of inflammatory and angiogenic regulators, in addition to increased incidence of apoptosis in the human placenta and increased oxidative stress [16], but studies correlating oxidative stress with the normal average DOL are limited. This study, for the first time to our knowledge, demonstrated a simultaneous increase in the levels of oxidative parameters and antioxidant defenses and a decrease in the activity of  $\delta$ -ALA-D in neonates of pregnant

women with a DOL of more than 5 h when compared with those with a DOL less than 5 h, considered not to be prolonged.

The active phase of labor is characterized by regular uterine contractions with cervical dilatation  $\geq 4$  cm and presents differences between primiparous and multiparous, which may last for 8 h in primiparous women and 5 h in multiparous women [17]. This evidence supports our results, where a greater percentage of patients with DOL  $< 5$ h were multiparous, and patients with DOL  $> 5$ h were primiparous (Table 1), and parity could be a contributing factor to the higher oxidative stress found during childbirth with more than 5 h.

Regarding the neonatal birth weight, there was no significant difference between the groups, corroborating with findings of Rao et al. [18] which compared the birth weight of neonates with prolonged labor with the control group. The Apgar score did not present a significant difference, but revealed a good neonatal condition, being that low scores ( $< 7$ ) were associated with neonatal mortality [19].

The fetal–placental circulation has low vascular resistance; thus, vasoactive molecules such as nitric oxide are involved in the control of fetal–placental hemodynamics [20]. The level of NO in the umbilical cord serum of neonates with longer DOL indicated by NOx concentration was found to be increased (Table 2). In this case, the increase of NOx in the fetal compartment may represent a compensatory protective response to maintain blood flow and decrease platelet aggregation, which are altered circulatory mechanisms, especially in a longer DOL.

Labor itself leads to the release of hormones such as epinephrine and norepinephrine, which cause reduced uterine blood flow [21], as well as several pro-inflammatory mediators that stimulate the production of reactive oxygen species [22] of MDA in umbilical cord blood [1]. In the present study it was possible to observe an increase in

TBARS in plasma and erythrocytes in neonates with longer DOL (Table 2), and a positive correlation between these two parameters evaluated in Table 3. Rao et al. [18] demonstrated high lipid peroxidation associated with prolonged labor in newborns, and this fact would explain the positive correlation observed between the DOL with TBARS in plasma and erythrocytes, shown in Table 3, suggesting that the higher peroxidation lipid profile may be directly related to longer DOL.

Due to the longer labor time, an organism can increase the antioxidant mechanisms to contain the generated oxidative imbalance. According to Nakai et al. [21], the higher DOL causes maternal oxidative stress and a marked increase in postpartum antioxidant enzymes. In this study, there was an increase in Vitamin C as well as thiol groups in plasma (Table 2), showing its possible action in protection against oxidation. The FRAP was also increased in neonates with higher DOL (Table 2), again showing the possible compensatory mechanism related to higher DOL. The positive correlation of Vitamin C and FRAP with DOL shown in Table 3 reveals a possible involvement of both in reducing iron to combat oxidative stress during labor. In the present study, an increase in antioxidant defenses was observed, reflected in the higher levels of FRAP, Vitamin C and plasma thiolic groupings, besides positive correlations of these markers with DOL, which may be related to a compensatory mechanism of these defenses by increasing the pro-oxidant species, which can be verified by the positive correlation between TBARS plasma with the P-SH marker and Vitamin C, as well as the positive correlation between FRAP and Vitamin C shown in Table 3.

The  $\delta$ -ALA-D is proposed as a marker of oxidative stress because it contains sulfhydryl groups in its structure that are highly sensitive to oxidation, leading to a reduction in enzyme activity [23,24]. The enzyme  $\delta$ -ALA-D acts on its substrate ALA, which is a pro-oxidant compound. When inhibition of its activity occurs, there is an indirect

increase in oxidative stress due to ALA accumulation, causing a vicious cycle [25]. In this study, newborns with a longer DOL had lower  $\delta$ -ALA-D activity (Figure 1A), since the environment of a longer DOL may intensify the generation of free radicals that allow inhibition of the enzyme action, decreasing its activity in the umbilical cord blood of neonates submitted to this condition.

Inhibition of the  $\delta$ -ALA-D enzyme causes accumulation of its ALA substrate, which at physiological pH undergoes auto-oxidation, affecting free radical formation and leading to increased lipid peroxidation and DNA damage [26]. The enzyme reactivation index can be determined by incubation with the dithiothreitol agent (DTT), which is responsible for reverting to  $\delta$ -ALA-D activity by keeping the thiol groups of the enzyme in a reduced state, thus providing a reactivation index [25]. As observed in Figure 1B, the reactivation index was significantly higher in neonates with longer DOL, confirming the greater inhibition of the enzyme in this group and showing a possible involvement of thiol groups in this inhibition, since there was restoration of  $\delta$ -ALA-D enzyme activity in the presence of DTT in vitro.

In conclusion, we report increased oxidative stress parameters in neonates of pregnant women with longer DOL. This DOL, although not considered prolonged, increased the generation of free radicals, requiring a compensatory mechanism with increased production of antioxidants by the newborn. Thus, these new results allow a better understanding of the oxidative mechanisms involved during birth, since oxidative stress has already been related to several complications and losses in the newborn that can predispose to diseases whose damages can extend beyond the perinatal period.

Acknowledgments

The present work was realized with the financial support of the Coordination of Improvement of Higher Level Personnel (CAPES). Our thanks go to all volunteers.

#### Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interests.

#### References

[1] Noh EJ, Kim YH, Cho MK, et al. Comparison of oxidative stress markers in umbilical cord blood after vaginal and cesarean delivery. *Obstet gynecol Sci.* 2014;57:109-114.

[2] Díaz-Castro J, Florido J, Kajarabille N, et al. A new approach to oxidative stress and inflammatory signaling during labour in healthy mothers and neonates. *Oxid Med Cell Longev.* 2015:1-8.

[3] Jain S, Nair A, Shrivastava C. Evaluation of oxidative stress marker malondialdehyde level in the cord blood of newborn infants. *Int J of Sci Study.* 2015;3:73-76.

[4] Mutlu B, Bas AY, Aksoy N, et al. The effect of maternal number of births on oxidative and antioxidative systems in cord blood. *J Matern-Fetal Neonatal Med.* 2012;25:802–805.

[5] Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2011;25:287–299.

- [6] Gülbayzar S, Arica V, Hatipoglu S, et al. Malondialdehyde level in the cord blood of newborn infants. *Iran J Pediatr*. 2011;21:313-319.
- [7] Ozsurekci Y, Aykac K. Oxidative stress related diseases in newborns. *Oxid Med Cell Longev*. 2016:1-9.
- [8] Tatsch E, Bochi GV, Pereira RDS, et al. A simple and inexpensive automated technique for measurement of serum nitrite/nitrate. *Clin Biochem*. 2011;44:348–350.
- [9] Lapenna D, Ciofani G, Pierdomenico SD, et al. Reaction conditions affecting the relationship between thiobarbituric acid reactivity and lipid peroxides in human plasma. *Free Radic Biol Med*. 2001;31:331–335.
- [10] Boyne AF, Ellman GL. A methodology for analysis of tissue sulfhydryl components. *Anal Biochem*. 1972;46:639-653.
- [11] Jacques-Silva MC, Nogueira CW, Broch LC, et al. Diphenyldiselenide and ascorbic acid changes deposition of selenium and ascorbic acid in liver and brain of mice. *Pharmacol Toxicol*. 2001;88:119-125.
- [12] Galley HF, Davies MJ, Webster NR. Ascorbyl radical formation in patients with sepsis: effect of ascorbate loading, *Free Radic Biol Med*. 1996;20:139-143.

- [13] Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal Biochem.* 1996;239:70–76.
- [14] Berlin A, Schaller KH. European standardized method for the determination of delta-aminolevulinic acid dehydratase activity in blood. *Z Klin Chem Klin Biochem.* 1974;12:389-390.
- [15] Chitra M, Mathangi DC, Johnson P. Oxidative stress during spontaneous vaginal delivery: comparison between maternal and neonatal oxidative status. *Int J of Med Res and Rev.* 2016;4: 60-66.
- [16] Cindrova-Davies T, Yung HW, Johns J, et al. Oxidative stress, gene expression, and protein changes induced in the human placenta during labor. *The Am J of Pathol.* 2007;171: 1168-1179.
- [17] Ministério da saúde. Diretriz Nacional de Assistência ao Parto Normal. Brasil: Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS; 2016.
- [18] Rao G, Kamath U, Raghothama C, et al. Maternal and fetal indicators of oxidative stress in various obstetric complications. *Indian J Clin Biochem.* 2003;18:80-86.
- [19] Casey BM, Mcintire DD, Leveno KJ. The continuing value of Apgar score for the assessment of newborn infants. *N Engl J Med.* 2001; 344:467-471.

[20] Darkwa EO, Djagbletey R, Sottie D, et al. Serum nitric oxide levels in healthy pregnant women: a case- control study in a tertiary facility in Ghana. *Matern Health Neonatol Perinatol*. 2018;4:1-5.

[21] Nakai A, Oya A, Kobe H, et al. Changes in maternal lipid peroxidation levels and antioxidant enzymatic activities before and after delivery. *J Nippon Med Sch*. 2002;67:434-439.

[22] Kelly RW. Inflammatory mediators and parturition. *Rev Reprod*. 1996;1: 89–96.

[23] Baierle M, Charão MF, Göethel G, et al. Are delta-aminolevulinatodehydratase inhibition and metal concentrations additional factors for the age-related cognitive decline?. *Int J Environ Res Public Health*. 2014;11:10851-10867.

[24] Sauer E, Moro AM, Brucker N, et al. Liver  $\delta$ -aminolevulinate dehydratase activity is inhibited by neonicotinoids and restored by antioxidant agents. *Int J Environ Res Public Health*. 2014;11:11676-11690.

[25] Rocha JBT, Saraiva RA, Garcia SC, et al. Aminolevulinate dehydratase ( $\delta$ -ALA-D) as marker protein of intoxication with metals and other pro-oxidant situations. *Toxicol. Res*. 2012;1:85–102.

[26] Lucca L, Rodrigues F, Jantsch LB, et al. Delta-aminolevulinate dehydratase activity and oxidative stress markers in preeclampsia. *Biomed Pharmacother*. 2016;8:224-229.

Table 1: Maternal and neonatal clinical and demographic characteristics according to the duration of labor (DOL).

Parameter	Shorter DOL (<5h) (n = 33)	Longer DOL (>5h) (n = 35)	p-value
Age (years)	23.0 (19.00–28.00)	22.00 (20.00–29.00)	0.7620
Gestational age (weeks)	39.0 (38.00–40.00)	39.50 (38.75–40.00)	0.4047
Parity			
Primiparous	36.36%	68.58%	
Multiparous	63.64%	31.42%	0.0078*
Labor duration (mins)	210.0 (190.00–285.00)	380.0 (330.00–480.00)	0.0001*
Induction of childbirth			
Yes	39.40%	57.14%	0.1433
No	60.60%	42.86%	
Number of prenatal consultations	8.5 ± 0.51	9.3 ± 0.57	0.2739
Birth weight (g)	3177 ± 78.87	3330 ± 74.58	0.1649
Apgar scores 5 min	9.0 (9.00–9.00)	9.0 (9.00–9.00)	0.5791
Apgar scores 10 min	10.0 (10.00–10.00)	10.0 (10.00–10.00)	0.3583

The parametric results were determined by Student's t-test and represented as mean ± SD. The non-parametric results were determined by the Mann–Whitney test and represented as median (interquartile range). \* p < 0.05.

Table 2: Oxidative damage markers and antioxidant defenses in neonates according to duration of labor (DOL).

Parameter	Shorter DOL (<5h) (n = 33)	Longer DOL (>5h) (n = 35)	p value
NOx serum ( $\mu\text{mol/L}$ )	266 (178–374)	345 (210–498.5)	0.0409*
TBARS erythrocytes (nmol/mL)	50.19 (24.48–79.66)	74.70 (44.28–102.3)	0.0291*
TBARS plasma (nmol/mL)	9.82 $\pm$ 0.71	12.36 $\pm$ 0.73	0.0165*
P-SH plasma (nmol P-SH/mL)	88.67 (82.50–121)	120.2 (88.36–174.7)	0.0355*
VITAMIN C plasma ( $\mu\text{g vit C/mL}$ )	21.54 $\pm$ 1.22	26.74 $\pm$ 1.30	0.0050*
FRAP plasma ( $\mu\text{mol/L}$ )	460(388.5–600.5)	599 (489–766)	0.0093*

Parametric results were determined by Student's t-test and represented as mean  $\pm$  SD. Non-parametric results were determined by the Mann–Whitney test and represented as median and interquartile range. \* p < 0.05.

Table 3: Correlation between parameters evaluated in neonates.

Parameter	Spearman r	p-value
DOL (min) versus TBARS plasma	0.326	0.007*
DOL (min) versus TBARS erythrocytes	0.294	0.017*
DOL (min) versus FRAP	0.255	0.038*
DOL (min) versus Vitamin C	0.258	0.039*
TBARS plasma versus TBARS erythrocytes	0.302	0.014*
TBARS plasma versus P-SH	0.267	0.036*
TBARS plasma versus Vitamin C	0.285	0.021*
FRAP versus Vitamin C	0.373	0.002*

Spearman correlation in neonates (n = 68).  $p < 0.05$  was considered statistically significant for the analyses. DOL: duration of labor; TBARS: thiobarbituric acid reactive substances; FRAP: plasma iron reduction capacity; P-SH: protein thiol group.

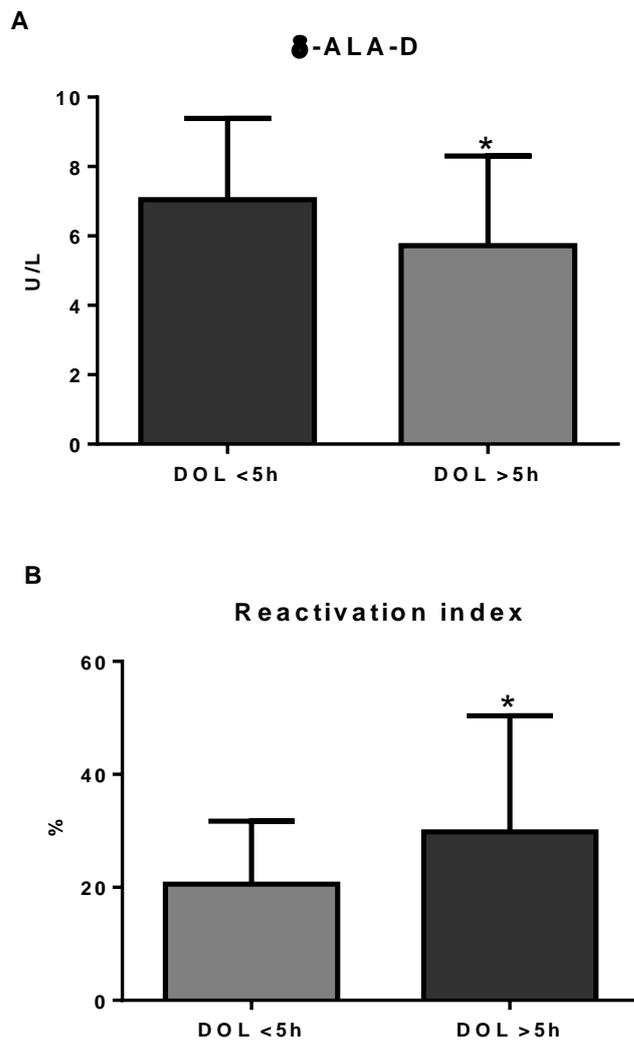


Figure 1: Activity and index of reactivation of the enzyme  $\delta$ -ALA-D. A) The activity of the enzyme  $\delta$ -ALA-D was determined by Student's t-test and represented as mean with SD. \*  $p < 0.05$  when compared to DOL < 5h. (B) The reactivation index was determined by Student's t-test and represented as mean with SD. \*  $p < 0.05$  when compared to DOL < 5h.

### 3 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados nessa dissertação, podemos concluir o seguinte:

- 1) A relação nitrato/nitrito apresentou-se aumentada em sangue de cordão umbilical de neonatos com DTP>5h, sugerindo maior concentração de ON neste grupo.
- 2) A peroxidação lipídica esteve aumentada na DTP>5h.
- 3) As defesas antioxidantes, como grupo tiólico, vitamina C e FRAP estão aumentados em neonatos com DTP>5h, agindo como um mecanismo compensatório para conter a grande geração de radicais livres neste grupo.
- 4) A atividade da enzima  $\delta$ -ALA-D está diminuída em amostras de sangue de cordão com DTP>5h, sendo que a sua inibição pode prejudicar a síntese do grupamento heme e levar ao acúmulo de substâncias pró-oxidantes.
- 5) O índice de reativação da enzima  $\delta$ -ALA-D aparece aumentado em amostras com DTP>5h.
- 6) Houve correlação positiva entre parâmetros avaliados, sugerindo que o maior estresse oxidativo está correlacionado com a maior duração do trabalho de parto.
- 7) Neonatos não apresentaram alterações significativas entre os grupos com relação a parâmetros como o peso ao nascer e o índice de Apgar, sendo recomendado novos estudos avaliando outros parâmetros em neonatos.
- 8) A DTP abordada neste estudo não é considerada prolongada, mas foi capaz de alterar parâmetros relacionados ao estresse oxidativo, sugerindo que menores DTP também podem causar danos oxidativos.

## REFERÊNCIAS

- ABUHANDAN, M. et al. An evaluation of oxidative status in serum and breast milk of mothers giving birth prematurely and at full-term. **Iran. J. Pediatr.**, v. 25, n. 4, p. 1-4, 2015.
- AGARWAL, A.; GUPTA, S.; SHARMA, R.K. Role of oxidative stress in female reproduction. **Reprod. Biol. Endocrinol.**, v. 28, n. 3, p.1-21, 2005.
- ALI E. M. M.; HAMDY S.M.; MOHAMED T.M. Nitric oxide synthase and oxidative stress: regulation of nitric oxide synthase. **Oxidative stress - molecular mechanisms and biological effects**. Cap.4, p.61-72, 2012. Disponível em: < <https://pdfs.semanticscholar.org/b561/d26a6e85bd6b538cc77b7d4ef144eef033be.pdf> f>. Acesso em: 02 dezembro 2018.
- ARGUELLES, S. et al. Correlation between circulating biomarkers of oxidative stress of maternal and umbilical cord blood at birth. **Free Radic. Res.**, v. 40, p. 565-570, 2005.
- ARORA, R.; VIG, A.P.; ARORA, S. Lipid peroxidation: a possible marker for diabetes. **J. Diabetes Metab.**, p. 1-6, 2013.
- AYKAC, K.; OZSUREKCI, Y. Oxidative stress related diseases in newborns. **Oxid. Med. Cell. Longev.**, p. 1-9, 2016.
- BAIERLE, M. et al. Are delta-aminolevulinatase inhibition and metal concentrations additional factors for the age-related cognitive decline?. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 11, n. 10, p. 10851-10867, 2014.
- BAK, A.; ROSZKOWSKI, K. Oxidative stress in pregnant women. **Arch. Perin. Med.**, v. 19, n. 3, p. 150-155, 2013.
- BARBOSA, K.B.F. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev. Nutr.**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.
- BEEVI, S.S.S.B; RASHEED, A.M.H.; GEETHA, A. Evaluation of oxidative stress and nitric oxide levels in patients with oral cavity cancer. **Jpn. J. Clin. Oncol.**, v. 34, n. 7, p. 379-385, 2004.
- BETTERIDGE, D.J. What is oxidative stress?. **Metabolism**, v. 49, n. 2, p. 3-8, 2000.
- BIRBEN, E. et al. Oxidative stress and antioxidant defense. **World Allergy Organ. J.**, v. 5, n. 1, p. 1-19, 2012.
- BISWAS, S. et al. Assessment of stress and antioxidant status among newborns in relation to mode of delivery. **Int. J. Curr. Res. Review**, v. 6, n. 7, p. 65-73, 2014.
- BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Ann. Bot.**, v. 91, p. 179-194, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Diretriz nacional de assistência ao parto normal**. Brasília, DF, 2016. 381 p.

BRITO, V.B. et al. Inhibition of  $\delta$ -aminolevulinatase dehydratase is not closely related to the development of hyperglycemia in alloxan-induced diabetic mice. **Exp. Toxicol. Pathol.**, v. 63, p. 443–451, 2011.

BONFANTI, G. et al.  $\delta$ -Aminolevulinatase dehydratase activity in type 2 diabetic patients and its association with lipid profile and oxidative stress. **Clin. Biochem.**, v. 44, p. 1105–1109, 2011.

BRETT, K. E. et al. Maternal-fetal nutrient transport in pregnancy pathologies: the role of the placenta. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 15, p. 16153-16185, 2014.

BUONOCORE, G.; PERRONE, S.; TATARANNO, M. L. Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. **Semin. Fetal Neonatal Med.**, v. 15, p. 186–190, 2010.

BURTON, G. J.; JAUNIAUX, E. Oxidative stress. **Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.**, v. 25, n. 3, p. 287-299, 2011.

CASEY, B.M.; MCINTIRE, D.D; LEVENO, K.J. The continuing value of Apgar score for the assessment of newborn infants. **N. Engl. J. Med.**, v.344, p.467-471, 2001.

CASTRO, J. D. et al. A new approach to oxidative stress and inflammatory signaling during labour in healthy mothers and neonates. **Oxid. Med. Cell. Longev.**, p. 1-8, 2015.

CHITRA, M.; MATHANGI, D. C.; JOHNSON, P. Oxidative stress during spontaneous vaginal delivery: comparison between maternal and neonatal oxidative status. **Int. J. Med. Res. Review**, v. 4, p. 60-66, 2016.

CHOI, J.W.; IM, M.W.; PAI, S.H. Nitric oxide production increases during normal pregnancy and decreases in preeclampsia. **Ann. Clin. Lab. Sci.**, v. 32, n. 3, p. 257-263, 2002.

CINKAYA, A. et al. Maternal plasma total antioxidant status in preterm labor. **J. Obstet. Gynaecol. Res.**, v. 36, n. 6, p. 1185–1188, 2010.

COHEN, MV. Free radicals in ischemic and reperfusion myocardial injury: is this time for clinical trials?. **Ann. Intern. Med.**, v. 111, n. 11, p. 918-931, 1989.

DE LUCCA, L. et al. Delta-aminolevulinatase dehydratase activity and oxidative stress markers in preeclampsia. **Biomed. Pharmacother.**, v. 8, p. 224-229, 2016.

DOTAN Y.; LICHTENBERG D.; PINCHUK I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. **Prog. Lipid Res.**, v. 43, p. 200–227, 2004.

ERDEM, M. et al. Comparative study of oxidative stress in maternal blood with that of cord blood and maternal milk. **Arch. Gynecol. Obstet.**, v. 285, p. 371–375, 2012.

FERRARI, C.K.B. Capacidade antioxidante total (CAT) em estudos clínicos, experimentais e nutricionais. **J. Health Sci. Inst.**, v. 28, n. 4, p. 307-310, 2010.

FRIEDMAN, E.A.; NEW YORK, M.D. The graphic analysis of labor. **Am. J. Obst. Gynecol.**, v. 68, n. 6, p. 1568 -1575, 1954.

FRIJHOFF, J. et al. Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress. **Antioxid. Redox Signal.**, v. 23, n. 14, p. 1144-1170, 2015.

GARREL, C.; FOWLER, P. A.; AL-GUBORY, K. H. Developmental changes in antioxidant enzymatic defences against oxidative stress in sheep placentomes. **J. Endocrinol.**, v. 205, p. 107–116, 2010.

GITTO, E. et al. Oxidative stress of the newborn in the pre- and postnatal period and the clinical utility of melatonin. **J. Pineal Res.**, v. 46, p. 128-139, 2008.

GONÇALVES, T.L. et al. Involvement of oxidative stress in the pre-malignant and malignant states of cervical cancer in women. **Clin. Biochem.**, v. 38, p. 1071-1075, 2005.

GROTTO, D. et al. Avaliação da estabilidade do marcador plasmático do estresse oxidativo - malondialdeído. **Quim. Nova**, v. 31, n. 2, p. 275-279, 2008.

GUBORY, K. H.; FOWLER, P. A.; GARREL, C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. **Int. J. Biochem. Cell. Biol.**, v. 42, n. 10, p. 1634-1650, 2010.

GULBAYZAR, S. et al. Malondialdehyde level in the cord blood of newborn infants. **Iran. J. Pediatr.**, v. 21, n. 3, p. 313-319, 2011.

GUNNARSSON, B. et al. On predicting time to completion for the first stage of spontaneous labor at term in multiparous women. **BMC Pregnancy Childbirth**, v. 17, p. 1-8, 2017.

HANLEY, G.E. et al. Diagnosing onset of labor: a systematic review of definitions in the research literature. **BMC Pregnancy Childbirth**, p. 1-11, 2016.

HILDINGSSON, I. et al. How long is a normal labor? contemporary patterns of labor and birth in a low-risk sample of 1,612 women from four nordic countries. **Birth Iss. Perinat. C.**, v. 42, n. 4, p. 346-353, 2015.

HO, E., et al. Biological markers of oxidative stress: applications to cardiovascular research and practice. **Redox Biol.**, v. 1, p. 483–491, 2013.

HRACSKO, Z. et al. Evaluation of oxidative stress markers after vaginal delivery or caesarean section. **In vivo**, v. 21, p. 703-706, 2007.

- HU, Y. et al. Placenta response of inflammation and oxidative stress in low-risk term childbirth: the implication of delivery mode. **BMC Pregnancy Childbirth**, p.1-10, 2017.
- ICHIISHI, E.; LI, X.K.; IORIO, E.L. Oxidative stress and diseases: clinical trials and approaches. **Oxid. Med. Cell. Longev.**, p. 1-3, 2016.
- JEEVA J.S. et al. Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases. **J. Pharm. Bioallied Sci.**, 7(Suppl 2): S331-3, 2015.
- JONES, D.P. Radical-free biology of oxidative stress. **Am. J. Physiol. Cell. Physiol.**, v. 295, p. 849-868, 2008.
- KALUDERCIC, N.; GIORGIO, V. The dual function of reactive oxygen/nitrogen species in bioenergetics and cell death: the role of ATP synthase. **Oxid. Med. Cell. Longev.**, p. 1-17, 2016.
- KOTA, S.K. et al. Endocrinology of parturition. **Indian J. Endocrinol. Metab.**, v. 17, n. 1, p. 50-59, 2013.
- KURAMOTO, N.; KITAGAWA, M. Evaluation of oxidative stress, antioxidant power, and antioxidant potential of breast milk of breast-feeding mothers. **Sci. Res. Publishing**, v. 9, p. 1145-1158, 2017.
- KURUTAS, E.B. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. **Nutr. J.**, p. 1-22, 2016.
- LAVOIE, J.C.; TREMBLAY, A. Sex-specificity of oxidative stress in newborns leading to a personalized antioxidant nutritive strategy. **Antioxidants**, v. 7, n. 4, p. 1-11, 2018.
- LEKHARU, R. et al. A study of lipid peroxidation and antioxidant enzymes in normal pregnancy. **GCSMC J. Med. Sci.**, v. 3, n. 1, p. 55-56, 2014.
- LI, S. et al. The role of cellular glutathione peroxidase redox regulation in the suppression of tumor cell growth by manganese superoxide dismutase. **Cancer Res.**, v. 60, p. 3927–3939, 2000.
- LIGUORI, I. et al. Oxidative stress, aging, and diseases. **Clin. Interv. Aging**, v. 13, p. 757–772, 2018.
- LOBO, V. et al. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacogn. Rev.**, v. 4, n. 8, p. 118-126, 2010.
- LUIKING, Y.C. et al. Regulation of nitric oxide production in health and disease. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v. 13, n. 1, p. 97-104, 2010.
- MALAMITSI-PUCHNER A. et al. The influence of the mode of delivery on circulating cytokine concentrations in the perinatal period. **Early Hum. Dev.**, v. 81, p. 387-392, 2005.

MEHMETOGLU, I. et al. Oxidative stress in mothers and their newborns in different types of labour. **Turk. J. Med. Sci.**, v. 32, p. 427-429, 2002.

MENON, R. Oxidative stress damage as a detrimental factor in preterm birth pathology. **Front. Immunol.**, v. 5, p. 1-14, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Agência saúde**. Brasil, 2018. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/42714-ministerio-da-saude-fara-monitoramento-online-de-partos-cesareos-no-pais>>. Acesso em: 24 dez. 2018.

MUTLU, B. et al. The effect of maternal number of births on oxidative and antioxidative systems in cord blood. **J. Matern. Fetal Neonatal Med.**, v. 25, p. 802-805, 2012.

NEAL, J.L. et al. Active labor duration and dilation rates among low-risk, nulliparous women with spontaneous labor onset: a systematic review. **J. Midwifery Womens Health**, v. 55, n. 4, p. 308–318, 2010.

NEJAD, R.K. et al. Comparison of oxidative stress markers and serum cortisol between normal labor and selective cesarean section born neonates. **J. Clin. Diagn. Res.**, v. 10, n. 6, p. 1-3, 2016.

NOH, E. J. et al. Comparison of oxidative stress markers in umbilical cord blood after vaginal and cesarean delivery. **Obstet. Gynecol. Sci.**, v. 57, p. 109-114, 2014.

PADURARU, L. et al. Total antioxidant status in fresh and stored human milk from mothers of term and preterm neonates. **Pediatr. Neonatol.**, p. 1-6, 2018.

PAUL M. Oxygen administration to preterm neonates in the delivery room: minimizing oxidative stress. **Adv. Neonatal care**, v. 15, n. 2, p. 94-103, 2015.

PERRONE, S. et al. Oxidative stress and nutrition in the preterm newborn. **J. Pediatric Gastroenterol. Nutr.**, v. 45, p. 178-182, 2007.

PIVETTA D. G. L. et al. Human erythrocyte d-aminolevulinate dehydratase inhibition by monosaccharides is not mediated by oxidation of enzyme sulfhydryl groups. **Cell Biol. Int.**, v. 29, p. 669-674, 2005.

PHAM-HUY, L.A.; HE, H.; PHAM-HUY, C. Free radicals, antioxidants in disease and health. **Int. J. Biomed. Sci.**, v. 4, n. 2, p. 89-96, 2008.

PHANIENDRA, A.; JESTADI D.B.; PERIYASAMY L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. **Ind. J. Clin. Biochem.**, v. 30, n.1, p.11-26, 2015.

RAHAL, A. et al. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. **BioMed Res. Int.**, p. 1-19, 2014.

RAO, G, et al. Maternal and fetal indicators of oxidative stress in various obstetric complications. **Indian J. Clin. Biochem.**, v. 18, p. 80-86, 2003.

ROCHA, J. B. T. et al. Aminolevulinate dehydratase ( $\delta$ -ALA-D) as marker protein of intoxication with metals and other pro-oxidant situations. **Toxicol. Res.**, v. 1, p. 85–102, 2012.

ROMERO, R.; DEY, S.K.; FISHER, S.J. Preterm labor: one syndrome, many causes. **Science**, v. 345, p. 760-764, 2014.

SAPHIER, O. et al. Does mode of delivery affect neonate oxidative stress in parturition? Review of literature. **Arch. Gynecol. Obstet.**, v. 287, p. 403-406, 2013.

SAUER, E. et al. Liver  $\delta$ -Aminolevulinate dehydratase activity is inhibited by neonicotinoids and restored by antioxidant agents. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 11, p. 11676-11690, 2014.

SHEMIN, D. 5-Aminolevulinic acid dehydratase: structure, function and mechanism. **Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.**, v. 273, p. 109–115, 1976.

SIMIONI, C. et al. Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. **Oncotarget**, v. 9, p. 17181-17198, 2018.

SOUZA, J.B. et al. Delta-aminolevulinate dehydratase ( $\delta$ -ALA-D) activity in diabetes and hypothyroidism. **Clin. Biochem.**, v. 40, n. 5, p. 321-325, 2007.

SRIDHAR, M. G. et al. Oxidative stress varies with the mode of delivery in intrauterine growth retardation: association with apgar score. **Clin. Biochem.**, v. 40, p. 688-691, 2007.

SUN, X. et al. Activation of the epithelial sodium channel (ENaC) leads to cytokine profile shift to pro-inflammatory in labor. **EMBO Mol. Med.**, p. 1-15, 2018.

TAHA, M.M. et al. Association between  $\delta$ -aminolevulinate dehydratase G177C polymorphism and blood lead levels in brain tumor patients. **Mol. Clin. Oncol.**, v. 3, p. 995-1000, 2015.

TRINDADE, C.E.P.; RUGOLO, L.M.S.S. Free radicals and neonatal diseases. **Neoreviews**, v. 8, n. 12, p. 522-532, 2007.

URAS, N. et al. Prolonged jaundice in newborns is associated with low antioxidant capacity in breast milk. **Scand. J. Clin. Lab. Invest.**, v. 70, p. 433–437, 2010.

UTTARA, B. et al. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. **Curr. Neuropharmacol.**, v. 7, p. 65-74, 2009.

VAKILIAN, K. et al. On the relation of oxidative stress in delivery mode in pregnant women, a toxicological concern. **Toxicol. Mech. Methods**, v. 19, p. 94-99, 2009.

VALENTINI, J. et al. Human erythrocyte delta-aminolevulinate dehydratase activity and oxidative stress in hemodialysis patients. **Clin. Biochem.**, v. 40, p. 591–594, 2007.

WEBER, D. et al. Oxidative stress markers and micronutrients in maternal and cord blood in relation to neonatal outcome. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 68, p. 215–222, 2014.

WILINSKA, M. et al. Oxidative stress and total antioxidant status in term newborns and their mothers. **Ann. Agric. Environ. Med.**, v. 22, n. 4, p. 736-740, 2015.

YADAV, A.S.; SAINI M. Evaluation of systemic antioxidant level and oxidative stress in relation to lifestyle and disease progression in asthmatic patients. **J. Med. Biochem.**, v. 35, p. 55–62, 2016.

## ANEXOS

## ANEXO A – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO À REVISTA FREE RADICAL RESEARCH



ScholarOne Manuscripts™ Thissiane Gonçalves ▾ Instructions & Forms Help Log Out

Free Radical Research Taylor & Francis Taylor & Francis Group

Home Author Review

Author Dashboard

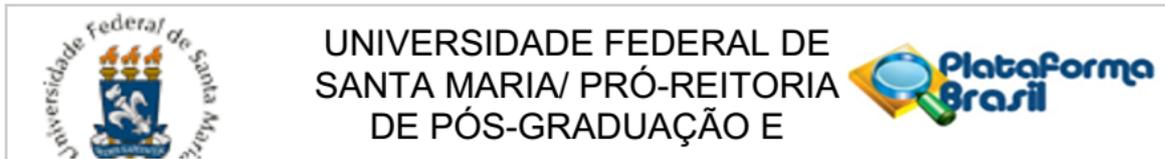
**Author Dashboard**

- 1 Submitted Manuscripts >
- [Start New Submission](#) >
- [Legacy Instructions](#) >
- [5 Most Recent E-mails](#) >
- [English Language Editing Service](#) >

## Submitted Manuscripts

STATUS	ID	TITLE	CREATED	SUBMITTED
ED: Griffiths, Helen • Under Review	GFRR-OM-2018-0344	Duration of labor interferes with markers of oxidative stress in umbilical cord blood of neonates <a href="#">View Submission</a>	17-Oct-2018	17-Oct-2018

## ANEXO B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** OS EFEITOS DO TIPO DE PARTO SOBRE OS PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO MATERNO E FETAL EM GESTANTES HÍGIDAS E COM PRÉ-

**Pesquisador:** thissiane de lima gonçalves

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 61974816.3.0000.5346

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Santa Maria/ Pró-Reitoria de Pós-Graduação e

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.175.837

#### Apresentação do Projeto:

Emenda apresentada ao projeto com apreciação de aprovação em que se propõe acrescentar patologias como Diabetes e Hipertensão Arterial ao efeito do parto e sua relação com o estresse oxidativo.

#### Objetivo da Pesquisa:

Geral: avaliar os parâmetros indicadores de estresse oxidativo no sangue de gestantes híginas, com pré-eclâmpsia e também com outras patologias comuns nesta condição como Diabetes e hipertensão, atendidas no Centro Obstétrico do Hospital Universitário de Santa Maria logo após o período de entrega vaginal ou cesárea, bem como avaliar esses parâmetros no sangue do cordão umbilical de neonatos e identificar a relação com o estresse oxidativo e o possível efeito sobre o recém-nascido.

#### Específicos:

-Avaliar a associação dos parâmetros de estresse oxidativo durante o nascimento com complicações maternas e nos neonatos.

-Avaliar os protetores do estresse oxidativo no sangue materno e no do cordão umbilical: as

**Endereço:** Av. Roraima, 1000 - prédio da Reitoria - 2º andar

**Bairro:** Camobi

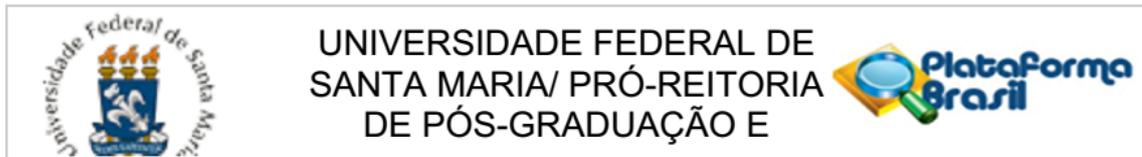
**CEP:** 97.105-970

**UF:** RS

**Município:** SANTA MARIA

**Telefone:** (55)3220-9362

**E-mail:** cep.ufsm@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.175.837

enzimas catalase e superóxido dismutase em eritrócitos;  
 a vitamina C no plasma, e grupamentos tióis (-SH) no plasma e em eritrócitos.  
 -Avaliar a peroxidação lipídica, através do TBARS, no plasma e quantificar os grupamentos carbonila.  
 -Avaliar a atividade da enzima sulfidrílica delta-aminolevulinato desidratase (-ALA-D) no sangue total.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Descritos adequadamente.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Apresenta todos os termos obrigatórios.

**Recomendações:**

Veja no site do CEP - <http://w3.ufsm.br/nucleodecomites/index.php/cep> - na aba "orientacoes gerais", modelos e orientacoes para apresentacao dos documentos. ACOMPANHE AS ORIENTACOES DISPONIVEIS, EVITE PENDENCIAS E AGILIZE A TRAMITACAO DO SEU PROJETO.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

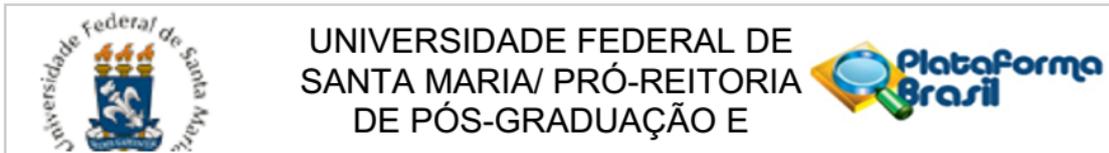
Sem pendências ou inadequações.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_959691 E1.pdf	10/07/2017 14:44:28		Aceito
Outros	emenda.pdf	10/07/2017 14:41:22	thissiane de lima goncalves	Aceito

**Endereço:** Av. Roraima, 1000 - prédio da Reitoria - 2º andar  
**Bairro:** Camobi **CEP:** 97.105-970  
**UF:** RS **Município:** SANTA MARIA  
**Telefone:** (55)3220-9362 **E-mail:** cep.ufsm@gmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA MARIA/ PRÓ-REITORIA  
DE PÓS-GRADUAÇÃO E

Continuação do Parecer: 2.175.837

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoParto.docx	10/07/2017 14:39:54	thissiane de lima gonçalves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	19/12/2016 16:42:05	thissiane de lima gonçalves	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetoparto.pdf	19/12/2016 16:41:42	thissiane de lima gonçalves	Aceito
Outros	GAP2.pdf	10/11/2016 12:25:45	thissiane de lima gonçalves	Aceito
Outros	GAP1.pdf	10/11/2016 12:25:03	thissiane de lima gonçalves	Aceito
Outros	GEP.pdf	10/11/2016 12:24:24	thissiane de lima gonçalves	Aceito
Outros	confidencialidade.pdf	10/11/2016 12:22:33	thissiane de lima gonçalves	Aceito
Folha de Rosto	rostro.pdf	10/11/2016 12:19:48	thissiane de lima gonçalves	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SANTA MARIA, 17 de Julho de 2017

---

**Assinado por:**  
**CLAUDEMIR DE QUADROS**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Av. Roraima, 1000 - prédio da Reitoria - 2º andar  
**Bairro:** Camobi **CEP:** 97.105-970  
**UF:** RS **Município:** SANTA MARIA  
**Telefone:** (55)3220-9362 **E-mail:** cep.ufsm@gmail.com