

**Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde  
Área de Concentração em Clínica Médica**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

***AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA CARGA TABÁGICA SOBRE A  
CIRCULAÇÃO MATERNO-FETAL***

**JULIA DE BARROS MACHADO**

**PORTO ALEGRE  
2009**

**JULIA DE BARROS MACHADO**

***AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA CARGA TABÁGICA SOBRE A  
CIRCULAÇÃO MATERNO-FETAL***

Dissertação apresentada à Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul para obtenção do título de Mestre em Medicina e Ciências da Saúde – Área de Concentração: Clínica Médica.

**Orientador: José Miguel Chatkin**

**PORTO ALEGRE  
2009**

#### **DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)**

M149a Machado, Julia de Barros

Avaliação dos efeitos da carga tabágica sobre a circulação materno-infantil / Julia de Barros Machado. Porto Alegre: PUCRS, 2009.

78 f.: il. tab.

Orientação: Prof. Dr. José Miguel Chatkin.

Dissertação (Mestrado) Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Curso de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de concentração: Clínica Médica.

1. TABAGISMO. 2. TERCEIRO TRIMESTRE DA GRAVIDEZ. 3. ULTRASONOGRAFIA DOPPLER. 3. NICOTINA/toxicidade. 4. COTININA/urina. 5. MONÓXIDO DE CARBONO/análise. 6. CIRCULAÇÃO PLACENTÁRIA. 7. ESTUDOS DE COORTE. I. Chatkin, José Miguel. II. Título.

C.D.D. 613.85

C.D.U. 613.85:618.2(043.3)

N.L.M. QV 137

Rosária Maria Lúcia Frezza Geremia  
Biblioteca CRB 10/196

*Ao meu marido Lucas, por tolerar a minha ausência e estar em todos os momentos ao meu lado, me dando apoio e carinho, e por reforçar os meus ideais pessoais através do amor.*

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a minha família, em especial aos meus pais, pela educação, amor e incentivo que sempre recebi.

Ao Dr. Chatkin, meu orientador, pela paciência, confiança e ajuda incondicional durante todas as fases desse trabalho. Presteza em corrigir e dedicação como orientador, sempre extremamente participativo e, principalmente, por ter me dado essa oportunidade de unir as áreas de pesquisa da Pneumologia com a Obstetrícia.

Ao Dr. Plínio, por toda ajuda e pela oportunidade que vem me proporcionando, nunca poderei agradecer suficientemente por tudo que tem feito por mim.

Ao secretário Antônio por seu esforço intenso na fase de recrutamento das pacientes e sua total disponibilidade para ajudar.

Aos residentes e preceptores do Serviço de Obstetrícia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, pela ajuda no recrutamento das pacientes.

Ao Dr. Mário Wagner, por seu empenho na análise estatística.

Ao Guilherme, por sua disponibilidade e presteza em realizar as medidas das cotininas.

À enfermeira Edna, pela ajuda com as medidas do monóxido de carbono.

Enfim, a todas as pessoas que de alguma maneira contribuíram para a realização desse trabalho, pois quem realiza um trabalho de pesquisa sabe que não o faz sozinho.

## RESUMO

**Introdução:** Evidências de toxicidade da nicotina sobre o desenvolvimento fetal são amplamente documentadas na literatura. Um dos mecanismos envolvidos na toxicidade resulta do comprometimento da vascularização placentária. Os trabalhos, geralmente, quantificam o tabagismo em relação ao número de cigarros fumados referidos pelas pacientes, informações nem sempre verdadeiras. As medidas bioquímicas mais utilizadas para validar a auto-declaração são as concentrações de monóxido de carbono no ar exalado (COex) e a da cotinina salivar, plasmática ou urinária. A dopplervelocimetria é um método que propicia o estudo hemodinâmico materno e fetal através da estimativa de fluxo nas artérias uterinas, umbilicais e cerebrais médias fetais, utilizando as relações entre as velocidades de fluxo sistólico e diastólico. O objetivo deste trabalho é estudar os efeitos do tabagismo sobre a circulação materno-fetal através da medida dos fluxos nas artérias uterinas, cerebral média e umbilical e peso fetal ao nascer, relacionando os valores encontrados com as medidas de COex e cotinina urinária.

**Método:** Estudo coorte prospectiva. Foram recrutadas pelo pesquisador, após assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido, 30 gestantes tabagistas e 34 não tabagistas, no terceiro trimestre da gestação, do Ambulatório de Assistência Pré-natal de baixo risco do Serviço de Obstetrícia do HSL-PUCRS. Foi realizada ecografia para avaliar o índice de resistência das artérias uterinas, umbilical e cerebral média; medida de CO exalado e cotinina urinária. Essas pacientes foram acompanhadas até o parto, para avaliar o peso fetal ao nascer. As pacientes tabagistas foram divididas em grupos com valores crescentes de COex e cotinina urinária para avaliar os efeitos sobre os índices de resistência vascular.

**Resultados:** Ao comparar os grupos, sem estratificar a carga tabágica, observou-se aumento significativo dos índices de resistência nas artérias uterinas direita, esquerda e na umbilical. O índice de resistência da artéria cerebral média mostrou tendência à diminuição. Ao classificar conforme os valores do COex, foi observado aumento significativo nos índices de resistência nas artérias uterinas direita, esquerda e na umbilical associado à diminuição na artéria cerebral média. Detectou-se diminuição significativa no percentil do peso fetal ao nascimento, associado ao aumento do COex. Quando o grupo tabagista foi separado quanto aos valores crescentes de cotinina urinária, os resultados foram similares, exceto na artéria uterina direita. A artéria cerebral média evidenciou tendência à diminuição significativa dos índices de resistência associado ao aumento da cotinina na regressão linear, porém não manteve a significância quando foi corrigido para os possíveis fatores de confusão. Verificou-se também uma diminuição proporcional do percentil do peso fetal ao nascimento com o aumento dos valores da cotinina urinária, estatisticamente significativo.

**Conclusão:** Neste estudo, detectou-se, por dopplervelocimetria das artérias uterinas, umbilical e cerebral média, alterações compatíveis com hipóxia crônica associada a possíveis mecanismos de compensação fetal para manter sua homeostase e consequente diminuição do peso fetal ao nascer, crescentes em relação às medidas de COex e cotinina urinária.

**Palavras-chave:** Ultrassonografia Doppler, tabagismo, cotinina, monóxido de carbono exalado, placenta.

## ABSTRACT

**Introduction:** Evidence of nicotine's toxicity in fetal development are widely documented in countless publications. One of the mechanisms involved in nicotine toxicity results from the compromised nature of placental vascularization. Studies generally quantify tobacco smoke in relation to the number of cigarettes smoked, as indicated by the patients, information which is not always accurate. The biochemical measurements most used in validating self-declaration are concentrations of carbon monoxide in the exhaled air (COex) and concentration of salivary, plasmatic or urinary cotinine. Doppler Velocimetry is a method which enhances maternal and fetal hemodynamic study, using the flow estimate in the uterine, umbilical and middle cerebral fetal arteries through ultrasonography, using the relationship between systolic and diastolic flow velocity. The objective of this study is to research the effects of tobacco smoking on maternal-fetal circulation through the measurement of flows in the uterine, middle cerebral and umbilical arteries, as well as fetal birth weight, relating the values obtained with the COex and urinary cotinine measurements.

**Method:** Prospective study design. 30 pregnant smokers and 34 pregnant non-smokers in their third trimester were recruited by the researcher, after having signed a free and clarified consent form, from the Obstetric Services Low Risk Prenatal Care Center at the PUCRS Hospital Sao Lucas. Ultrasonography was employed to evaluate the resistance index of the uterine, umbilical and middle cerebral arteries; measure of CO exhaled and urinary cotinine. These patients were assessed during childbirth in order to evaluate the fetal birth weight. The smokers were divided into groups with increasing values of COex and urinary cotinine in order to evaluate the increasing effects on the vascular resistance indexes.

**Results:** Upon comparing the groups, without stratifying for tobacco exposure, a significant increase was observed in the resistance indexes in the right and left uterine and umbilical arteries. The resistance index of the middle cerebral artery showed a tendency to decrease. Upon classifying according to the COex values, a significant increase was observed in the resistance indexes of the right and left uterine and umbilical arteries together with a decrease in the middle cerebral artery. A significant decrease was detected in the fetal birth weight percentile, relative to the increase in COex. When the smoker group was separated according to the increasing values of urinary cotinine, the results were similar, except in the right uterine artery. The middle cerebral artery showed a trend of significant decrease of the resistance indexes, relative to the increase in cotinine on linear regression, but this statistical significance was not maintained after having made corrections of possible confusion factors. A proportional decrease was also verified in the fetal birth weight percentile with the increase of the urinary cotinine values, with statistical significance.

**Conclusion:** In this study, using Doppler velocimetry in uterine, umbilical and middle cerebral arteries, changes were detected corresponding to chronic hypoxia relating to possible fetal compensation mechanisms to maintain its homeostasis, and a decrease in fetal birth weight, with an increase in relation to the measurements of COex and urinary cotinine.

**Keywords:** Ultrasonography Doppler, tobacco smoking, placenta, cotinine, carbon monoxide.

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACM	Artéria cerebral média
AU	Artéria umbilical
AUD	Artéria uterina direita
AUE	Artéria uterina esquerda
CO Hb	Carboxi-hemoglobina
CO	Monóxido de carbono
CO <sub>2</sub>	Dióxido de oxigênio
COex	Monóxido de carbono exalado
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance
HSL-PUCRS	Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
ILA	Índice de líquido amniótico
IP	Índice de Pulsatilidade
IR	Índice de Resistência
O <sub>2</sub>	Oxigênio
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCO <sub>2</sub>	Pressão de dióxido de oxigênio
PIG	Pequeno para a idade gestacional
PO <sub>2</sub>	Pressão de oxigênio
RR	Risco relativo
S/D	Sístole/diástole
VD	Velocidade diastólica
VS	Velocidade sistólica

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição das pacientes nos grupos quanto às dosagens de COex e cotinina. ...	39
Tabela 2 – Características da população em estudo .....	40
Tabela 3 – Percentis do índice de resistência vascular entre gestantes segundo tabagismo alegado.....	41
Tabela 4 – Percentis do índice de resistência vascular e do peso ao nascer entre quatro grupos segundo exposição ao tabagismo medida pelo monóxido de carbono exalado.....	41
Tabela 5 – Percentis do índice de resistência e do peso ao nascer entre quatro grupos segundo exposição ao tabagismo medida pela cotinina urinária .....	43

## LISTA DE FIGURAS E ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fluxograma dos procedimentos realizados na coleta de dados.....	36
Figura 2 – Percentis dos índices de resistência das artérias em relação aos grupos com valores progressivos do COex .....	42
Figura 3 – Percentis dos índices de resistência das artérias em relação aos grupos com valores progressivos de cotinina urinária. ....	44

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
1.1	CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE TABAGISMO .....	13
1.2	Tabagismo no Brasil .....	13
1.3	Tabagismo e gestação .....	14
1.3.1	Epidemiologia .....	14
1.3.2	Tabagismo e alterações na placenta e feto .....	14
1.3.3	Complicações perinatais.....	17
1.3.4	Complicações Tardias .....	18
1.4	Métodos de avaliação quantitativos do tabagismo na gestação .....	19
1.4.1	Cotina .....	20
1.4.2	Monóxido de carbono exalado (COex) .....	23
1.5	Estudo dopplervelocimétrico .....	25
1.5.1	Circulação materno-fetal .....	26
1.5.1.1	Circulação útero-placentária.....	26
1.5.1.2	Circulação feto-placentária.....	28
1.5.1.3	Mecanismo de centralização .....	29
1.5.2	Dopplervelocimetria na gestação .....	31
1.6	Contexto na literatura .....	31
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>33</b>
2.1	Hipótese: .....	33
<b>3</b>	<b>PACIENTES E MÉTODOS .....</b>	<b>34</b>
3.1	População .....	34
3.2	Critérios de Inclusão .....	34
3.3	Critérios de Exclusão .....	34
3.4	Métodos.....	35
3.5	Delineamento .....	38
3.6	Ética.....	38
3.7	ESTATÍSTICA .....	39
3.7.1	Tamanho de amostra .....	39
3.7.2	Análise dos Dados .....	39
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>40</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>51</b>

<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>52</b>
<b>ANEXO A - PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS .....</b>	<b>62</b>
<b>ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO .....</b>	<b>63</b>
<b>ANEXO C - ARTIGO .....</b>	<b>65</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE TABAGISMO

O tabagismo, antes visto como um estilo de vida, é reconhecido, atualmente, como dependência química que expõe os indivíduos a inúmeras substâncias tóxicas. O total de mortes no mundo devido ao uso do tabaco atingiu cifras de 4,9 milhões no ano de 2003<sup>1</sup>. Caso as atuais tendências de expansão do seu consumo sejam mantidas, esses números aumentarão para 10 milhões de mortes anuais por volta do ano 2030, sendo 50% delas em indivíduos que se encontram na idade produtiva economicamente.<sup>1</sup>

Estima-se que em 2000 o consumo de tabaco tenha sido responsável por 1 em cada 10 óbitos de adultos, sendo que metade destas mortes ocorreram em países de baixa renda.<sup>2</sup> Embora os efeitos do tabagismo sobre a saúde sejam conhecidos desde a década de 50, ainda hoje esta é a principal causa de morte evitável no mundo, sendo uma das principais causas globais de óbito.<sup>3</sup> O cigarro afeta globalmente o organismo, sendo que 50% dos fumantes morrem prematuramente de doenças relacionadas ao tabaco.<sup>4</sup>

É consenso que o consumo de cigarro difere entre indivíduos, áreas geográficas e sexos. Observou-se, nas últimas décadas, alterações nos padrões tabágicos, principalmente entre as mulheres, após a Segunda Guerra Mundial. O crescente consumo na população feminina preocupa, visto que a literatura tem sugerido maior dificuldade das mulheres em abandonar o cigarro e, principalmente, apontado os malefícios na gestação.<sup>5-7</sup>

### 1.2 TABAGISMO NO BRASIL

O Brasil é um dos principais produtores de tabaco do mundo, sendo o tabagismo responsável por cerca de 200.000 mortes/ano neste país. Estima-se que um terço dos adultos brasileiros fumam, 11,2 milhões são mulheres, sendo que 90% delas tornam-se fumantes na idade jovem e a prevalência é maior entre as idades de 20 e 49 anos.<sup>8</sup> Apesar disso, o Brasil é reconhecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um dos países mais avançados em termos de desenvolvimento de políticas públicas de controle de tabagismo,<sup>9</sup> observando-se

declínio na prevalência do uso do tabaco nos últimos anos,<sup>10</sup> tendo diminuído na população acima de 18 anos de 34% em 1989 para 22% em 2003.<sup>10</sup>

### 1.3 TABAGISMO E GESTAÇÃO

#### 1.3.1 Epidemiologia

A prevalência do tabagismo durante a gravidez era estimada em torno de 20% a 33% no Brasil entre 1989 e 2003.<sup>11</sup> Um estudo realizado em 6 capitais brasileiras (Manaus, Fortaleza, Salvador, Rio de Janeiro, São Paulo e Porto Alegre) mostrou uma prevalência de tabagismo na gestação de 17,5%, variando de 7,2% em Manaus a 31,9% em Porto Alegre.<sup>12</sup>

O período da gestação é o momento em que existe a maior concentração de mulheres que abandonam o cigarro. Nos Estados Unidos, mais de 40% das gestantes param de fumar antes mesmo da primeira consulta pré-natal.<sup>13</sup> Embora as taxas de abandono sejam altas, apenas um terço continua abstinente após um ano do parto.<sup>14</sup>

Existem diferenças entre as gestantes que abandonam o cigarro e aquelas que mantêm a dependência. O uso continuado e o alto consumo está associado a nível sócio-educacional mais baixo, a estar sem companheiro e à baixa renda.<sup>15, 16</sup> Além das características sociais, existem fatores psicológicos associados à continuidade do tabagismo na gestação, especialmente depressão, estresse no trabalho, exposição à violência do parceiro.<sup>17, 18</sup>

#### 1.3.2 Tabagismo e alterações na placenta e feto

O possível mecanismo das alterações placentárias relacionadas ao tabagismo materno, através da nicotina e seus metabólitos estáveis como a cotinina, ocorre por efeitos tóxicos, uma vez que estes compostos facilmente atravessam a placenta humana. Esta não funciona somente como um conduto passivo, pois tem a capacidade de reter as substâncias tóxicas que a atravessam.<sup>19</sup>

Essas alterações são provavelmente secundárias a efeitos vasculares dos constituintes do tabaco.<sup>20,21</sup> Por exemplo, na década de 90, estudos concluíram que o tabagismo poderia diminuir o fluxo de sangue para a placenta<sup>22</sup> através de vasoconstrição. Em acordo com esta observação, as placentas de mães que fumam mostram sinais de redução da perfusão.<sup>23</sup>

Dadas as conhecidas ações da nicotina sobre os vasos e conseqüente hipóxia fetal, não é surpreendente que a placenta de gestantes que fumam apresente diferenças na morfologia, em comparação às obtidas das não fumantes.<sup>24</sup> Estas diferenças podem ser vistas em vários níveis, desde características anatômicas macroscópicas até as alterações microscópicas. Assim, as calcificações placentárias comumente encontradas em gestações a termo, podem estar aumentadas em pacientes tabagistas como um possível marcador de dano.<sup>25</sup>

Existe uma classificação da placenta com relação ao grau de maturação, que se chama classificação de Grannum, que avalia o grau de calcificação placentária.<sup>26</sup>

Grau 0: parênquima homogêneo, sem calcificações.

Grau 1: raras calcificações puntiformes intra-placentárias (principalmente basais), e começo da definição da placa basal (linhas ecogênicas).

Grau 2: placa basal calcificada e septações ecogênicas evidentes (parcialmente calcificadas) dirigindo-se da placa basal à placa corial.

Grau 3: cotilédones calcificados totalmente definidos por septações completas (se houver descontinuidade nas septações, a placenta é grau II), presente em apenas 15% das gestações de termo.<sup>26</sup>

As gestantes tabagistas podem apresentar todos os tipos de grau de placenta.

Numerosas diferenças em nível microscópico também têm sido relatadas. No termo, observa-se diminuição do tamanho e volume celular das vilosidades coriônicas, assim como nos espaços intervilosos.<sup>27</sup> As veias da circulação fetal das vilosidades coriônicas apresentam sinais de angiogênese adaptativa.<sup>28</sup>

Estudos têm observado aumento na vascularização intrínseca da placenta em gestantes tabagistas, que podem ser compensatórias, buscando aumentar o fluxo embrio-fetal.<sup>29-32</sup> Além disso, o fumo induz a alterações nos níveis da sintase do óxido nítrico endotelial,<sup>33</sup> na

produção de progesterona,<sup>34</sup> no metabolismo do estrogênio,<sup>35</sup> no transporte de aminoácidos,<sup>36</sup> assim como na atividade de enzimas que metabolizam drogas.<sup>37</sup>

Apesar dos mecanismos que levam à diminuição no peso fetal ainda não serem totalmente conhecidos, acredita-se que possam dever-se ao fato de que a nicotina induz à hipóxia placentária, com consequente diminuição da proliferação citotrofoblástica, gerando então aumento na produção de fatores angiogênicos que levariam à vasoconstrição, que podem ser responsáveis pela restrição do crescimento fetal.<sup>38</sup>

A nicotina tem efeito nocivo sobre o feto, produzindo vasoconstrição nas artérias uterinas, reduzindo o aporte de oxigênio, aumentando a contratilidade uterina, agindo sobre os centros respiratórios nervosos e alterando a histo-arquitetura pulmonar do feto.<sup>38</sup>

A insuficiência útero-placentária tem sido vista como o principal mecanismo responsável pelo retardo do crescimento fetal nas gestantes fumantes;<sup>39,40</sup> pode ser desencadeada por vasoconstrição gerada pela nicotina na circulação do útero e placenta, reduzindo o fluxo sanguíneo e a oferta de nutrientes e oxigênio para o feto.<sup>40, 41</sup>

A nicotina é metabolizada em vários compostos, sendo o mais importante a cotinina, por possuir meia-vida maior do que a da nicotina e atingir altos níveis no plasma materno.<sup>42</sup> Apesar de aproximadamente 70% a 80% da nicotina ser metabolizada em cotinina, somente 10% a 15% da nicotina absorvida pelos tabagistas aparece na urina como cotinina inalterada.

O monóxido de carbono (CO) é um gás tóxico produzido pela combustão incompleta de matéria orgânica.<sup>43</sup> O CO se liga à hemoglobina materna e fetal com uma afinidade 200 vezes maior no sítio onde deveria se ligar o oxigênio.<sup>44</sup> A hemoglobina fetal apresenta ligação mais forte com o CO do que a hemoglobina materna, resultando em níveis de carboxi-hemoglobina (COHb) mais elevados na circulação fetal.<sup>45</sup>

As altas concentrações de COHb provocam hipóxia tecidual, estimulando a eritropoiese, causando elevação do hematócrito da gestante fumante e de seu feto. Isto implica em hiperviscosidade sanguínea, em aumento do risco de infarto cerebral no neonato e em mau desempenho da placenta. O CO altera a curva de dissociação da oxi-hemoglobina, prejudicando a oxigenação dos tecidos. A hipóxia celular crônica é um dos fatores que pode explicar o retardo do crescimento fetal.<sup>46</sup>

No sistema nervoso do feto, o CO age como uma potente toxina, podendo causar lesões neurológicas temporárias e/ou permanentes. No sistema cardiovascular, provoca elevação da frequência cardíaca e hipertrofia miocárdica.<sup>46</sup>

### 1.3.3 Complicações perinatais

Na gestação, o cigarro causa danos não só à mãe como também ao feto. O risco de condições maternas adversas e desfechos obstétricos desfavoráveis estão aumentados nas gestantes tabagistas.<sup>47</sup>

O fumo, na gravidez, é responsável por 20% dos casos de fetos com baixo peso ao nascer, 15% dos partos prematuros, complicações essas com impacto significativo na morbidade e mortalidade perinatal.<sup>46</sup>

O tabagismo, na gestação, tem sido associado a inúmeras complicações perinatais, dentre elas, placenta prévia, descolamento prematuro de placenta, ruptura prematura de membranas, parto prematuro, crescimento intra-uterino restrito e síndrome da morte súbita fetal. A mortalidade perinatal relacionada ao cigarro é cerca de 150% maior do que em gestantes não-fumantes.<sup>46</sup>

Castels e colaboradores estudaram os efeitos do cigarro durante a gestação e observaram elevado risco para placenta prévia, gestação ectópica e ruptura prematura de membranas e diminuição nos casos de pré-eclampsia.<sup>48</sup>

Acredita-se que a nicotina transportada através da placenta possa atingir níveis séricos suficientes para interferir nas vias de coagulação e fibrinogênese fetais, resultando em menores níveis de fator II e proteína S, além da diminuição da síntese do ativador tecidual do plasminogênio e fator VIII, enquanto outros marcadores da hemostasia permanecem inalterados. Discute-se se essas alterações possam ter repercussões clínicas para o feto.<sup>49</sup>

O intenso efeito do cigarro no crescimento fetal já está estabelecido desde 1972.<sup>50</sup> Entretanto, o tabagismo continua como a principal causa prevenível de crescimento intra-uterino restrito e tamanho pequeno para a idade gestacional (PIG).<sup>51</sup> Apesar de existirem fatores ambientais e genéticos que também influenciam no peso fetal, está definida a relação

causal entre tabagismo e o nascimento de PIGs.<sup>52</sup> Em 1957, Simpson e colaboradores<sup>53</sup> verificaram recém-nascidos de mães que fumavam mais de 10 cigarros por dia pesavam cerca de 200g a menos dos que os de mães não fumantes. Outros estudos repetiram esses achados e mostraram, repetidamente, a persistência dessa associação com riscos relativos estimados de 1,5 a 2,9.<sup>54</sup> A causalidade tem sido reforçada com estudos que mostram uma relação dose-resposta e melhora no peso quando as mães param de fumar durante a gestação.<sup>52, 55-57</sup> Apesar dessa relação causal já ser bem estabelecida, uma observação deve ser lembrada: nem todos os fetos expostos ao cigarro são pequenos para a idade gestacional. Isso mostra que os efeitos do tabaco no feto envolvem múltiplos fatores epidemiológicos, epigenéticos e sócio-demográficos.<sup>51</sup> Observa-se, também, a influência do tabagismo passivo na diminuição do peso ao nascer de fetos expostos ao tabaco em ambientes fechados.<sup>58</sup>

Apesar do tabagismo durante a gestação estar associado a crescimento fetal restrito, observa-se maior tendência de sobrepeso e obesidade durante a infância; o que pode estar associado a uma maior preocupação dos pais com a alimentação de seus filhos, após o nascimento, devido ao baixo peso ao nascer.<sup>59</sup>

Wisborg e colaboradores evidenciaram maior risco de morte súbita em recém-nascidos de mães tabagistas conforme o número de cigarros fumados por dia durante a gestação.<sup>60</sup>

Assim como atravessa as barreiras placentárias e se concentra no líquido amniótico, a nicotina também se concentra no leite materno. A quantidade de nicotina no leite humano está relacionada ao número de cigarros fumados pela mãe.<sup>61</sup> É senso comum entre os autores que haja inibição, pela nicotina, na secreção de prolactina. Dessa forma, há diminuição de volume de leite excretado, tornando-se insuficiente para atender as exigências nutricionais do recém-nascido. Essa situação acaba se tornando um motivo para a mãe deixar de amamentar.<sup>61</sup>

#### **1.3.4 Complicações Tardias**

O tabagismo durante a gestação também pode afetar a função pulmonar dos recém-nascidos quando adultos. Isso pode ser devido ao fato dos movimentos respiratórios serem essenciais para o adequado crescimento e maturação pulmonar fetal.<sup>62</sup> Sabe-se que filhos de mães tabagistas têm risco aumentado para desenvolver asma, porém as razões ainda são

desconhecidas. Blacchiere e colaboradores discutem a possibilidade de o fumo induzir remodelamento das vias aéreas e contribuir para o aumento da responsividade à metacolina.<sup>63</sup>

Com relação à cognição, tem-se observado que a exposição intra-útero ao tabaco causa alterações cerebrais fisiológicas e nas habilidades das crianças, que por sua vez podem predispor a outras alterações ao longo do desenvolvimento.<sup>64</sup>

Chang e colaboradores associam o tabagismo materno a maior risco de desenvolvimento de leucemia na infância, devido a fumaça do tabaco conter agentes cancerígenos.<sup>65</sup>

Com relação ao efeito protetor que o cigarro poderia ter no desenvolvimento de pré-eclampsia na gestação, parece estar restrito a casos de pacientes jovens (menos de 30 anos) e que não tenham história de hipertensão prévia.<sup>66</sup>

#### 1.4 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO QUANTITATIVOS DO TABAGISMO NA GESTAÇÃO

Estudos bioquímicos validados sugerem que a estimativa da exposição ao tabaco na gestação pode ser falha devido à informação incorreta por parte das pacientes mediante inquérito.<sup>67, 68</sup>

Essa incorreção pode estar ligada à pressão social que as gestantes tabagistas estão expostas, o que faz com que muitas vezes fumem escondido. Trabalho que compara as informações das pacientes com métodos de validação bioquímica encontra valores discordantes em 0 % a 48% das vezes.<sup>69</sup>

As medidas bioquímicas mais utilizadas para validar a auto-declaração são monóxido de carbono exalado (COex) e cotinina salivar, plasmática e urinária.<sup>69</sup>

Entre os marcadores existentes para a avaliação à exposição ao tabagismo, existem os compostos não metabolizados, como o monóxido de carbono, a nicotina e os carcinógenos, todos encontrados em sangue ou em órgãos; e os marcadores de exposição ao cigarro, como o monóxido de carbono exalado e os metabólitos em fluidos corporais, como a cotinina,

principal metabólito da nicotina, e metabólitos de carcinógenos no sangue. Os mais utilizados são o monóxido de carbono exalado e as concentrações de nicotina e cotinina nos fluidos corporais.<sup>70</sup>

#### 1.4.1 Cotinina

A cotinina pode ser considerada o padrão ouro da avaliação do status tabágico de um paciente pela capacidade de detectar baixo consumo ou mesmo uso esporádico de tabaco,<sup>71</sup> porém tem a desvantagem do alto custo, a necessidade de equipamento e de pessoal treinado. É o principal metabólito da nicotina, sendo um bom marcador para avaliar a exposição ao tabaco.<sup>72</sup>

A cotinina é a substância mais utilizada para estudar o comportamento dos fumantes, já que sua meia-vida prolonga-se por 36 a 40 horas, em média e, mesmo sendo coletada até dois dias após ter fumado, pode-se recuperar até 90% da cotinina.<sup>70</sup> Tanto em fumantes passivos quanto em ativos, seus níveis de concentração, em qualquer material, são lineares com a quantidade de tabaco consumida pelos fumantes ativos e com a exposição sofrida pelos fumantes passivos. Ressalta-se a importância da avaliação por meio deste método para validação das informações prestadas pelo fumante. Porém, é preciso atentar para as variações individuais em relação à nicotina consumida, por possuírem diferentes taxas de metabolização e por poder converter diferentes percentuais de nicotina em cotinina (entre 55% a 92%). Mesmo assim, a aferição da cotinina reflete com acurácia o grau de exposição tabágica.<sup>70</sup>

A avaliação dessa substância permite quantificar o grau/intensidade da exposição do fumante passivo nos dias precedentes. Uma vez absorvida a nicotina pelo trato respiratório, mucosa oral, trato gastrointestinal e até pela derme, a distribuição ocorre de forma livre para todo o organismo.<sup>72</sup>

A cotinina aparece em todos os fluidos biológicos de indivíduos expostos em poucos minutos por bio-transformação da nicotina no fígado. Por sua vez, a cotinina é oxidada e o produto final é eliminado na urina durante cerca de 2 a 3 dias.<sup>72</sup>

Os níveis médios plasmáticos encontrados em um fumante ficam em torno de 300 ng/mL, considerando-se estes como um excelente marcador para o tabagismo devido a sua especificidade.<sup>73</sup> Já a cotinina urinária pode servir, também, como um marcador qualitativo entre fumantes e não fumantes.<sup>74</sup>

Existem alimentos que possuem nicotina, como o tomate, a batata, a couve-flor e o chá preto e que, mesmo apresentando pequenas quantidades da substância, podem interferir na análise dos biomarcadores. Entretanto, a quantidade consumida em uma dieta normal não ultrapassa a 10% da nicotina consumida por fumantes, resultando em um adicional de 0,7 ng/mL de cotinina na urina, não causando impacto que comprometa a interpretação do resultado.<sup>70</sup>

A dosagem da cotinina é considerada o melhor preditor para analisar o *status* tabágico, especialmente durante a gestação.<sup>75</sup> Assim, por estar presente no sangue em maior concentração, por mais tempo que a nicotina, por ser específica para a exposição ao tabaco e por ter distribuição nos fluidos corporais mais restrita, a cotinina tem sido o marcador mais utilizado para avaliar o consumo de tabaco, bem como para controle de sua abstinência.<sup>76</sup>

A cotinina pode ser determinada nos fluidos biológicos por métodos colorimétricos, imunológicos ou cromatográficos. O mais utilizado é o HPLC (*high-performance liquid chromatography*) ou cromatografia líquida de alta eficiência. Essa é a técnica de eleição por apresentar alta sensibilidade e especificidade para a análise da cotinina.<sup>77</sup>

Os níveis usados como ponto de corte tanto para a cotinina plasmática como para salivar são de 15ng/mL, enquanto que para a urinária é de 50ng/mL.<sup>78</sup>

A Society of Research in Nicotine and Tobacco (SRNT),<sup>79</sup> em 2001, definiu os melhores pontos de corte da cotinina plasmática, concluindo que valores acima de 14ng/mL indicam tabagismo ativo. Tais níveis tendem a subestimar o número de fumantes reais em inquéritos populacionais, diante disso sugerem baixar o ponto de corte para até 3,0 ng/mL, sendo que a sensibilidade e a especificidade passam a ser de 96% e de 97%, respectivamente.

Assim como os outros marcadores, a dosagem da cotinina também possui limitações. O uso concomitante de certas medicações pode elevar seus valores, como as várias formas de reposição nicotínica e isoniazida.<sup>79</sup> Gestantes metabolizam a cotinina mais rapidamente que as não gestantes, devendo então ser considerado que sua meia-vida fica reduzida.<sup>79</sup> Há

diferenças no seu metabolismo também entre diferentes etnias, sendo que em afro-americanos e chineses a metabolização se dá de forma mais lenta.<sup>80</sup>

O nível salivar de cotinina também está relacionado com o número de cigarros fumados, sendo que sua concentração aumenta linearmente com o consumo de até 20 cigarros/dia, estabilizando a partir desse número. O método não é capaz de diferenciar o tipo de cigarro consumido.<sup>81</sup>

O uso de kit para medição rápida da cotinina salivar é um método que vem sendo aperfeiçoado. Parece ser válido, altamente sensível e específico para validação do comportamento tabágico, mas ainda carece de avaliação definitiva.<sup>82</sup>

A cotinina urinária é uma alternativa não invasiva, não requerendo punção venosa, com sensibilidade e especificidade perto dos 100%. Sua concentração é mais elevada na urina do que em outros fluidos biológicos, uma vez que a principal via de excreção da cotinina é a renal. Além disso, níveis urinários de cotinina podem ser detectados por até 60 horas depois de cessada a exposição.<sup>79</sup>

Devido principalmente à interferência de muitos componentes presentes na urina (eritrócitos, bilirrubina, nicotina ácida, nicotinamida, entre outros) que podem influenciar nas reações colorimétricas, e da possibilidade dos métodos imunológicos apresentarem reações cruzadas, a cromatografia líquida de alta eficiência, é a técnica de escolha para a quantificação de cotinina.<sup>83</sup>

O uso da cotinina urinária também foi avaliado em pacientes com insuficiência renal crônica, tendo sido evidenciado que, mesmo nesses pacientes, este metabólito urinário sofre pouca influência da doença de base, por isto o método passou a ser também utilizado para diferenciar fumantes de não fumantes em nefropatas.<sup>84</sup>

Além de marcador de tabagismo ativo, a cotinina urinária também pode ser usada como marcador de exposição passiva ao tabaco. Em estudo de caso controle realizado em cachorros, foi verificado que os animais expostos à fumaça de cigarro de seus donos tinham cotinina urinária detectada, enquanto que nos animais não expostos tal marcador não foi encontrado.<sup>85</sup>

Também em humanos submetidos à fumaça ambiental de cigarro, os níveis foram 1,5 vezes maiores em não fumantes que vivem com fumantes quando comparados a não fumantes que convivem com pessoas não tabagistas.<sup>86</sup>

#### 1.4.2 Monóxido de carbono exalado (COex)

Outro método de aferição que pode ser utilizado é a dosagem do COex na expiração, porém tem limitações devido a sua meia-vida curta de cerca de 1 a 4 horas. Portanto, não deve ser usado para medições prévias há 24 horas de exposição. Esses valores também podem variar conforme a idade da paciente, idade gestacional e hora da medida.<sup>69</sup>

Uma das características químicas do CO é sua capacidade de ligar-se reversivelmente à hemoglobina, como o oxigênio (O<sub>2</sub>). CO e O<sub>2</sub> são, portanto, competidores naturais pelas moléculas de hemoglobina, mas o CO possui afinidade 200 a 250 vezes maior. Esta condição faz também com que a dissociação seja muito mais lenta. O declínio da quantidade de carboxihemoglobina (COHb) no sangue arterial é bifásico: inicialmente é rápido (exponencial), com duração aproximada de 20 a 30 minutos, chamado de fase de distribuição. A fase seguinte, a de eliminação, tem dissociação muito lenta. Consumir fumaça proveniente da queima de tabaco resulta em níveis elevados de percentual de COHb no ar exalado. Os níveis normais (endógenos) são de 0,1% a 1%; concentrações de 3% são raramente encontradas em não fumantes expostos à poluição ambiental das grandes cidades e fumantes apresentam concentrações regularmente entre 5% e 15%. O percentual de COHb depende também de outros fatores, como o grau de atividade física realizado pelo indivíduo (já que há correlação direta com a ventilação alveolar), a forma de tabaco consumida, o padrão de consumo e a profundidade de inalação. O benefício mais imediato da cessação do tabagismo é o rápido declínio do nível de CO no sangue já em 12 horas.<sup>70</sup>

Um fumante, dependendo do seu padrão de consumo tabagístico, costuma adquirir níveis de COHb entre 2% e 15%, o que equivale a 10 - 80 ppm (partes por milhão) de CO no ar exalado. Fumantes de 20 cigarros por dia costumam apresentar de 3% a 6% de COHb (15- 34ppm CO), aumentando para 6% a 10% (15- 60ppm CO) nos fumantes de 40 cigarros por dia. Consumos maiores podem representar COHb acima de 20%. O que se mantém controverso é o nível de CO considerado atualmente para se definir se um paciente continua

fumando. Não há *cut-off* definido para esta separação entre fumante e não-fumante. Alguns autores sugerem que abaixo de 6ppm seria característico de não-fumantes, enquanto outros usam o limite entre 8 e 10ppm. Usualmente considera-se que valores abaixo de 10ppm estão relacionados aos não-fumantes e maior que 10ppm relacionados ao tabagismo nas 12-24 horas antecedentes.<sup>70</sup>

Assim, quando está sendo estudada a prevalência de fumantes em determinadas populações, por precisar-se de sensibilidade maior, tal ponto geralmente é escolhido em torno de 5ppm ou 6 ppm. Por outro lado, quando os estudos visam a acompanhar fumantes em processo de cessação do tabagismo, necessitando-se de maior especificidade, utilizam-se valores mais altos, entre 8 e 10ppm.<sup>87</sup>

Num estudo em amostra brasileira para avaliar a frequência de tabagismo, em um hospital geral da cidade de São Paulo, utilizando o COex como marcador, os autores consideraram 6 ppm como ponto de corte entre fumantes e não-fumantes.<sup>88</sup> Santos e Cols<sup>89</sup>, também usando valor de corte de COex igual a 6 ppm, encontraram sensibilidade de 77% e especificidade de 96% em uma população de voluntários (funcionários, usuários e visitantes) do Instituto do Coração, em São Paulo. Neste estudo, foi também encontrada correlação positiva entre o número de cigarros e o valor de COex.

Desse modo, conforme o Consenso Brasileiro de Tratamento do Tabagismo de 2008, publicado pela Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, o COex é um método que deve ser usado e o ponto de corte deve ser de 6 ppm para que tenha boa sensibilidade.<sup>90</sup>

Também na literatura internacional sobre o assunto, conforme o tipo de delineamento, são encontrados níveis de corte que vão de 3 - 8 ppm. Assim Cropsey e colaboradores,<sup>91</sup> avaliando o método COex em 374 pacientes institucionalizados, verificaram que o ponto de corte que determinava melhor sensibilidade e especificidade foi de 3 ppm, com valores de 98,1% e 95,8%, respectivamente.

O monoxímetro (ou carboxímetro) mede a concentração de monóxido de carbono no ar exalado, avaliando o grau de intoxicação nas últimas horas. É um método simples e barato, não-invasivo e com resultados imediatos e confiáveis. Não oferece, entretanto, a acuidade da cotinina. Há considerações importantes nos valores obtidos a partir da mensuração do CO no ar exalado: (a) leituras matinais podem levar a resultados baixos sem representar cessação do

tabagismo, mas apenas intervalo de consumo noturno (por outro lado, níveis elevados pela manhã são fortemente sugestivos de alto consumo e, muito provavelmente, alta dependência); (b) diferentes formas de consumo do tabaco podem interferir no resultado; (c) fumantes de charuto ou cachimbo classificados como secundários ( aqueles que começaram fumando cigarros e depois mudaram para uma destas outras formas de consumo do tabaco) possuem níveis mais elevados de COHb que primários ( aqueles que nunca fumaram cigarros), por geralmente possuírem um padrão diferente de inalação ( inalações mais frequentes e profundas, aumentando COHb); (d) o consumo diário de cigarros interfere no COHb, bem como a profundidade das inalações (capacidade de extrair mais de cada cigarro); (e) se a avaliação no dia do teste representa um dia habitual no cotidiano do paciente em estudo; (f) durante o sono a meia-vida da COHb aumenta para 5 horas, aproximadamente, enquanto atividades físicas podem reduzi-la consideravelmente; (g) se o fumante não fumou por várias horas antes do exame, considerar repetição do teste 10 minutos após fumar um cigarro; (h) em alguns ambientes laborativos pode haver exposição a CO, como na exposição gasosa veicular; (h) tabagismo passivo tem que ser extremamente intenso para elevar leitura acima de 2 ou 3ppm.<sup>70</sup>

Os valores de COex que permitem detectar se a gestante fumou ou não oscilam nos diversos estudos. Os valores que separam as tabagistas das não tabagistas variam entre 5 e 10 partes por milhão (ppm). Apesar de alguns trabalhos utilizarem 6 ppm ou 8 ppm como valor limite de referência de normalidade, a maioria dos estudos ainda utilizam o valor de 10 ppm por possuir uma maior especificidade, porém perde em sensibilidade.<sup>89</sup>

## 1.5 ESTUDO DOPPLERVELOCIMÉTRICO

A dopplerverlocimetria é um método que propicia o estudo hemodinâmico materno e fetal através da estimativa de fluxo nas artérias uterinas, umbilicais e cerebrais médias fetais, pela ultra-sonografia, utilizando as relações entre as velocidades de fluxo sistólico e diastólico.<sup>92</sup> Para interpretar esse exame, é importante conhecer a fisiologia da circulação materno-fetal para identificar as alterações.

## 1.5.1 Circulação materno-fetal

### 1.5.1.1 Circulação útero-placentária

Durante a gestação, trocas nutricionais e gasosas ocorrem na placenta, interface física entre mãe e feto. Para garantir o crescimento, o desenvolvimento e a sobrevivência intra-uterina, a placenta induz modificações circulatórias no organismo materno que acabam por direcionar ao útero maior volume de sangue. As unidades estruturais, sítios destas transformações, são as arteríolas espiraladas, ramos terminais das artérias uterinas, as quais atuam como canais de comunicação com a cavidade do útero e o espaço intervilososo. Representam, dessa forma, estruturas onde se dá a ligação sanguínea da mãe com o feto, conhecimento estabelecido há várias décadas.<sup>93</sup>

A boa adaptação materna à gestação, do ponto de vista circulatório, ocorre por uma modificação fisiológica no perfil hemodinâmico do útero. Este passa a demonstrar baixa resistência ao fluxo sanguíneo, baixa reatividade vasomotora e alta complacência vascular, favorecendo a oferta de substratos para o feto.<sup>93</sup> Tal modificação depende de adequada interação entre miométrio e trofoblasto, este constituído de células placentárias que apresentam antígenos paternos. Assim sendo, esta interação parece depender de fatores imunológicos,<sup>94</sup> modulando a atividade migratória do citotrofoblasto em profundidade no leito placentário, rumo às arteríolas espiraladas.<sup>93</sup>

A adaptação vascular induzida pela placenta acontece em dois estágios, um no primeiro, e outro no segundo trimestre de gestação, configurando a primeira e a segunda onda de invasão do trofoblasto.<sup>95</sup>

O início da primeira onda ocorre na quinta semana de gestação. Neste processo, as arteríolas espiraladas sofrem infiltração intersticial e endovascular das células trofoblásticas, com vasodilatação e progressiva substituição da camada íntima por material fibrinóide. Nesta etapa, as alterações estão limitadas ao endotélio do segmento intradecidual.<sup>93,96,97</sup>

Na segunda onda, entre a 16ª e a 20ª semana de gestação, a invasão progride para segmentos mais profundos, na intimidade do miométrio. A camada músculo-elástica das arteríolas espiraladas é substituída por tecido fibrinóide e fibroso, transformando-se nas artérias útero-placentárias.<sup>93,96</sup>

A dopplerfluxometria das artérias uterinas mostra, durante este processo, modificações progressivas caracterizadas por aumento da velocidade máxima e dos fluxos de volume, expressando a diminuição da resistência vascular. O resultado na onda de velocidade de fluxo deve ser observado após 24 a 26 semanas de gestação, pelo aumento da velocidade diastólica e desaparecimento da incisura aórtica. Tal achado indica bom estabelecimento da interface de troca materno-fetal e adequada adaptação circulatória à gestação.<sup>98</sup>

A migração incompleta do trofoblasto explica a insuficiência placentária e a sequência de eventos relacionados à má adaptação circulatória na gestação. Nesse modelo, os efeitos serão percebidos em intensidades diferentes: na mãe, pelas síndromes hipertensivas; no ambiente intra-uterino, pelo oligoâmnio, aceleração de maturidade, infartos e descolamentos placentários, e, no feto, pela restrição de crescimento e fenômenos de redistribuição de fluxo sanguíneo, incluindo o mecanismo de centralização.<sup>93</sup>

A insuficiência vascular placentária parece decorrer de inadequada interação entre trofoblasto e tecidos uterinos, provocando alterações qualitativas e quantitativas das arteríolas espiraladas do leito placentário.<sup>96</sup> As modificações fisiológicas ficam restritas ao segmento decidual, não sendo observadas na porção miometrial das arteríolas espiraladas. Portanto, não ocorre a segunda onda de invasão trofoblástica.<sup>94,95</sup>

Observa-se, ainda, nesta situação, redução no total de vasos que irrigam o espaço interviloso<sup>96</sup>, oclusão vascular por material fibrinóide e infiltrado perivascular mononuclear, em processo semelhante ao de aterosose.<sup>99</sup> Como consequência, ocorre isquemia, liberação de citotoxinas e outras alterações que consolidam a agressão vascular. Esse processo leva à redução do fluxo de troca materno-fetal no espaço interviloso e manutenção do perfil hemodinâmico presente antes da gestação, caracterizado por alta resistência ao fluxo sanguíneo e reatividade a estímulos vasoativos e baixa complacência vascular.<sup>96</sup>

Na doplervelocimetria das artérias uterinas, observa-se persistência da incisura aórtica e baixa velocidade diastólica, mantendo-se o padrão de resistência elevada após a 24<sup>a</sup> ou 26<sup>a</sup> semanas de gestação. Na literatura, está bem documentada a associação dessas características doplervelocimétricas a complicações gestacionais como pré-eclâmpsia, restrição de crescimento intra-uterino e prematuridade.<sup>100,101</sup>

### *1.5.1.2 Circulação feto-placentária*

A distribuição do oxigênio no feto inicia-se a partir do espaço interviloso, local da placenta ocupado pelo sangue materno que banha as vilosidades terciárias. Estas últimas correspondem a unidades vasculares de troca onde circula o sangue fetal em ramos terminais das artérias umbilicais. Uma vez oxigenado, o sangue das vilosidades dirige-se ao feto pela veia umbilical. Por este vaso apresentar o maior teor de oxigênio da circulação fetal, o encaminhamento do retorno venoso ao ventrículo esquerdo é fator decisivo no suprimento deste elemento a outros tecidos vitais, especialmente o cérebro, além do próprio coração.<sup>18</sup> Nesse trajeto, a mistura com o sangue não oxigenado, e conseqüente redução no teor de oxigênio, é minimizada graças à existência de dois atalhos ou desvios, que devem desaparecer após o nascimento: o ducto venoso e o forame oval.

Cerca da metade do fluxo da veia umbilical é desviado pelo ducto venoso (primeiro desvio), circuito direto entre veia umbilical e cava inferior, contornando a microcirculação hepática. Neste território, observam-se os mesmos níveis de pH, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub> e saturação de oxigênio daqueles obtidos na placenta. O ducto venoso é estreito, com menos de 2 mm de comprimento e com um terço do calibre da veia umbilical, características que o tornam capaz de projetar, em alta velocidade para a veia cava, o sangue oxigenado que alcança o átrio direito de forma a seguir curso preferencial para o átrio esquerdo através do forame oval (segundo desvio). Nesse trajeto, é minimizada a mistura com o fluxo lento e de baixa pressão de oxigênio da veia cava inferior que, chegando ao átrio, desagua no ventrículo direito. Do átrio esquerdo, o sangue rico em oxigênio chega ao ventrículo esquerdo, à aorta ascendente e, assim, ao miocárdio e cérebro.<sup>102</sup>

O sangue desoxigenado que entra no ventrículo direito perfunde os pulmões, sendo que a maior parte atravessa o ducto arterial, alcançando a aorta descendente após o local de emergência das artérias carótidas e coronárias. As artérias umbilicais, ramos da íliaca interna, rumam à placenta para o reabastecimento com oxigênio e nutrientes, constituindo a circulação feto-placentária. A insuficiência vascular placentária, qualquer que seja sua etiologia, determina obliteração progressiva das arteríolas do sistema viloso terciário, desencadeando alteração do fluxo de reabastecimento fetal.<sup>102</sup>

Os parâmetros doplervelocimétricos da artéria umbilical refletem, diretamente, a resistência vascular na placenta. Neste vaso, as ondas de velocidade de fluxo em uma

gravidez normal têm padrão característico: baixa resistência e alta velocidade de fluxo anterior, tanto na sístole quanto na diástole. No primeiro trimestre, o fluxo diastólico final está ausente e aumenta com o tempo de gestação devido à redução da resistência vascular. Esta mudança reflete o crescimento e amadurecimento da placenta, com maior número de vilosidades terciárias e dilatação de seus capilares. Na insuficiência placentária, a obstrução das arteríolas umbilicais, a destruição do tecido placentário nas áreas de infarto e os descolamentos na superfície de troca provocam aumento da resistência ao fluxo sanguíneo. A onda de velocidade de fluxo da artéria umbilical perde de forma progressiva o componente diastólico final, podendo tornar-se ausente ou reverso, na medida em que progride a disfunção placentária.<sup>101,103</sup>

#### *1.5.1.3 Mecanismo de centralização*

O conceito da centralização e suas repercussões sobre o feto foram bem definidos por Saling no final da década de 1960.<sup>104</sup> A técnica Doppler permitiu investigação não invasiva, estabelecendo conhecimento mais aprofundado dos sinais circulatórios presentes na hipóxia intra-uterina em fetos humanos. Assim, em 1986, Wladmiroff, Tong e Stewart<sup>102</sup> foram pioneiros em descrever esse fenômeno denominado "brain sparing effect".

Observou-se que a circulação fetal responde de forma adaptativa à insuficiência placentária. A redução do fornecimento de oxigênio desencadeia mecanismos de compensação no feto que preservam tecidos nobres, cujas funções mantêm atividades vitais. Dentre esses mecanismos, pode-se citar: a poliglobulia, a glicólise anaeróbia e o mecanismo de centralização fetal. A hipoxemia fetal também gera redistribuição do sangue no território venoso, aumentando em 30% a 65% a fração de sangue direcionada através do ducto venoso, contribuindo para manter a oxigenação dos órgãos nobres.<sup>104, 105</sup>

O mecanismo de centralização é fenômeno de defesa ativo e temporário desencadeado pelo estímulo de quimiorreceptores fetais na hipoxemia. Um maior fluxo de sangue é dirigido ao sistema nervoso central (centralização), ao miocárdio e às glândulas adrenais pela redução da resistência vascular nestes territórios. Entretanto, outros órgãos sofrem prejuízo com a vasoconstrição desencadeada por aumento da atividade simpática (adrenalina e

noradrenalina). Assim, baixo fluxo sanguíneo no intestino, pulmões e rins resulta em enterocolite necrotizante, broncodisplasia pulmonar e insuficiência renal com oligoâmnio.<sup>105</sup>

A vasodilatação cerebral produz aumento de fluxo sanguíneo suficiente para que a oferta de oxigênio mantenha-se constante, preservando as atividades biofísicas do feto. Esse fenômeno evidencia-se com a dopplerfluxometria da artéria cerebral média pelo aumento da velocidade diastólica e redução dos índices de resistência, com valores diretamente relacionados à gravidade da hipóxia.<sup>102</sup>

O mecanismo de centralização torna-se insuficiente à medida que piora a hipoxemia, ocorrendo redução compensatória no consumo de oxigênio pelo tecido cerebral.<sup>98</sup> A persistência desta condição desencadeia fenômeno de vasoplegia generalizada caracterizado por modificações hemodinâmicas irreversíveis. O aparecimento de edema cerebral e o aumento resultante na pressão intracraniana dificultam a perfusão sanguínea no cérebro. O edema cerebral, devido ao acúmulo local de ácido lático, altera a permeabilidade da membrana celular, aumenta a pressão osmótica intracelular e conduz ao edema e necrose tissulares.<sup>106</sup>

Na artéria cerebral média, observa-se redução máxima da resistência vascular quando a  $pO_2$  do sangue da veia umbilical está entre dois e quatro desvios padrão abaixo da média normal para idade gestacional. À medida que se agrava o déficit de oxigênio, a resistência vascular tende a aumentar como resultado do edema cerebral, traduzindo vasoconstrição. Esse fenômeno é conhecido como descentralização, sendo diagnosticado raramente, pouco antes do óbito intra-uterino.<sup>106</sup>

A centralização fetal traduz resposta compensatória do conceito. Entretanto, a duração e a eficácia desse mecanismo dependem da capacidade de adaptação e manutenção do equilíbrio hemodinâmico.<sup>107</sup> O tempo entre a instalação desse processo até o óbito é desconhecido, permanecendo entre um extremo e outro as complicações da morbidade perinatal relacionadas à asfixia.<sup>108</sup>

### 1.5.2 Dopplervelocimetria na gestação

No estudo dopplervelocimétrico, a medida refere-se à mudança na frequência de transmissão da energia das ondas observadas quando ocorre movimento relativo entre a fonte de transmissão das ondas e do observador. Um feixe de ultra-som emitido é disperso no sangue circulante por milhões de glóbulos vermelhos, o que faz com que o feixe incidente sofra mudança na frequência proporcional à velocidade do fluxo sanguíneo.<sup>109,110</sup>

A medida desses fluxos é importante, sendo que na gestação a sua mensuração ocorre basicamente através do índice de resistência (IR) dos vasos, já que se conhece a relação entre aumento da resistência ao fluxo nas artérias uterinas e a predição de doenças maternas e fetais, como pré-eclâmpsia e crescimento intra-uterino restrito.<sup>92</sup> O fluxo sanguíneo cerebral fetal adequado é um importante determinante para o desenvolvimento do encéfalo em formação.<sup>111</sup>

No terceiro trimestre, normalmente, observam-se baixos índices de resistência nas artérias uterinas e umbilicais e altos índices na artéria cerebral média, pois esta não necessita de grande fluxo, levando a privilegiar órgãos como rins, supra-renais e coração.

Desta forma, pode-se, quantificando a carga tabágica através da medida do CO exalado e nível urinário de cotinina, buscar a relação do fluxo materno-fetal medido nas artérias uterinas, umbilical e cerebral média.

## 1.6 CONTEXTO NA LITERATURA

Apesar de existirem vários estudos na literatura que evidenciam os efeitos do tabagismo na gestação, no fluxo placentário e na resistência vascular, ainda permanece controverso quais os vasos mais afetados e se esse efeito é agudo ou crônico. Além disso, os trabalhos quantificam o tabagismo com relação ao número de cigarros fumados referidos pelas pacientes, informações nem sempre confiáveis e que tendem a subestimar a frequência real de fumantes. É reconhecido que as informações obtidas através dos questionários específicos para tabagismo tendem a subestimar o número de fumantes.<sup>87</sup>

As gestantes, em especial, fazem parte de um grupo que costuma omitir seu real status tabágico, principalmente por medo da desaprovação médica, social e familiar. Boyd e colaboradores<sup>112</sup>, ao validarem um questionário sobre tabagismo aplicado em 107 gestantes que se declararam ex-fumantes, em ambulatório de pré-natal, encontraram discrepância entre as informações obtidas pelo questionário e a cotinina salivar de 26,2%.

Lewis e colaboradores<sup>113</sup> encontraram 18% de discrepância entre os dados de um questionário e o valor da cotinina plasmática. Nesse mesmo estudo, a prevalência de fumantes foi significativamente subestimada pelo questionário quando comparada às detectadas através da cotinina plasmática, 24,7% e 36,1% respectivamente ( $p < 0,001$ ).

Caraballo e colaboradores<sup>80</sup> estudaram o tabagismo de aproximadamente 2000 adolescentes entre 12 e 17 anos de idade em uma cidade dos Estados Unidos. Entre os adolescentes que se declararam não-fumantes, 2,7% tinham valores de cotinina sérica acima do ponto de corte.

Essa mesma discrepância também foi detectada em um relato obtido a partir de banco de dados de três países. Na Polônia, verificou-se que, usando cotinina salivar como padrão ouro, 4,4% dos que afirmavam não estar fumando apresentavam níveis aumentados do marcador. Nos Estados Unidos e na Inglaterra, usando cotinina plasmática, a discrepância entre o questionário e o marcador foi de 0,6% e 2,8% naqueles dois países respectivamente.<sup>114</sup>

Frente a essas informações, nas últimas duas décadas, um número crescente de estudos epidemiológicos, usando biomarcadores de exposição tabágica, tanto ativa quanto passiva, surgiu na literatura.

A quantificação objetiva do *status* tabágico é importante para conseguir estudar os verdadeiros efeitos e a relação dos níveis de nicotina com as alterações do fluxo materno-fetal.

Por isso, este trabalho pretende quantificar a carga tabágica através das dosagens de cotinina urinária e COex e avaliar os efeitos sobre a resistência vascular das artérias uterinas, umbilical e cerebral média e repercussões sobre o peso ao nascer.

## 2 OBJETIVOS

Estudar os efeitos do tabagismo sobre a circulação materno-fetal através da medida dos fluxos nas artérias uterinas, cerebral média e umbilical e relacionar os valores encontrados com as medidas de COex e cotinina urinária e verificar a repercussão no peso fetal ao nascer.

### 2.1 HIPÓTESE:

H1: O tabagismo diminui o fluxo sanguíneo materno-fetal relacionado ao aumento da carga tabágica, tendo repercussões no crescimento fetal.

H0: O tabagismo diminui o fluxo sanguíneo materno-fetal não relacionado ao aumento da carga tabágica, tendo repercussões no crescimento fetal.

### **3 PACIENTES E MÉTODOS**

#### **3.1 POPULAÇÃO**

Foram recrutadas pelo pesquisador, após assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido, gestantes tabagistas e não tabagistas, no terceiro trimestre da gestação, do ambulatório de assistência pré-natal de baixo risco do Serviço de Obstetrícia do HSL-PUCRS.

#### **3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO**

- Ser gestante tabagista e não tabagista (grupo controle)
- Não ter doenças prévias ou gestacionais concomitantes
- Ter idade entre 18 e 35 anos
- Estar no terceiro trimestre da gestação
- Ter idade gestacional confiável (datada no primeiro trimestre)
- Realizar pré-natal regularmente no Serviço de Obstetrícia do HSL PUCRS
- Aceitar participar do estudo após ter lido e assinado o Termo de Consentimento
- Fumar desde o período periconcepcional (foi definido como um mês antes da data da última menstruação) para o grupo tabagista
- Nunca ter fumado para o grupo não tabagista incluído

#### **3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO**

- Descontinuar a assistência pré-natal

- Apresentar diagnóstico ultrassonográfico de malformações fetais ou outras doenças associadas à gestação, como pré-eclampsia e diabetes gestacional
- Fazer uso de bebidas alcoólicas, drogas ou medicamentos
- Ter diagnóstico de patologias psiquiátricas, hipertensão arterial crônica ou outras doenças crônicas que possam interferir no crescimento fetal
- Negar-se a assinar o Termo de Consentimento, ser analfabeta e ser gestante com retardo mental

Foram excluídas as pacientes que pararam de fumar durante a gestação ou aquelas que iniciaram após a concepção.

#### 3.4 MÉTODOS

As pacientes foram recrutadas no ambulatório de Obstetrícia de Baixo Risco do HSL PUCRS e posteriormente foi feito contato telefônico para marcar a data da entrevista.

A entrevista consistiu em uma reunião em que foram explicados os objetivos do estudo, lido e assinado, conforme concordância, o Termo de Consentimento. Após, foi preenchida a ficha de coleta de dados (em anexo) e realizada a medida do COex. Imediatamente a paciente coletava a urina e retornava para a realização da ultrassonografia, de modo que não pudesse fumar entre a realização dos exames. (Figura 1) Após o nascimento, foi novamente feito contato telefônico para a coleta de dados do recém-nascido.



**Figura 1 – Fluxograma dos procedimentos realizados na coleta de dados.**

Todas as pacientes incluídas foram submetidas ao estudo dopplervelocimétrico com mapeamento em cores das artérias uterinas, artérias umbilicais e artérias cerebrais médias fetais, com medidas dos índices de resistência. Foi também realizada a medida do índice de líquido amniótico, avaliação do grau da placenta, biometria fetal, com cálculo do peso fetal estimado e colocados na curva de percentil para a idade gestacional.

O índice de resistência (índice de Pourcelout) corresponde à diferença entre a velocidade sistólica (VS) e a velocidade diastólica (VD), dividida pela VS, sendo representada pela fórmula:  $IR: VS - VD / VS$ .<sup>115</sup>

O aparelho de ultrassonografia utilizado foi o Ultrasonix, modelo Sonix versão 2,5 2.5.5<sup>a</sup>. Todos os exames foram realizados pela pesquisadora, sendo que a mesma possui

certificado pelo Colégio Brasileiro de Radiologia para área de atuação em Ultrassonografia Ginecológica e Obstétrica.

Foram realizadas três medidas em cada vaso, sendo calculada a média dos valores para minimizar o erro gerado pela análise de somente um observador.

Para a aquisição do traçado dopplervelocimétrico na artéria cerebral média, foi utilizado, inicialmente, um corte axial da cabeça fetal em nível do tálamo e cavum do septo pelúcido. Em seguida, moveu-se o transdutor até observar por inclinação cranial o polígono de Willis e a pulsação das duas artérias cerebrais médias. Com o auxílio do doppler a cores, foi visualizada a maior parte do trajeto da artéria a ser estudada, adicionando-se o doppler espectral e obtendo-se as ondas de fluxo. O volume da amostra (*gate*) foi calibrado a partir de uma régua padronizada, sendo utilizado 1 mm como medida e posicionado no centro da artéria cerebral média anterior, o mais próximo da calota craniana, antes da bifurcação. Foi feita a otimização do ângulo entre o feixe e a trajetória do fluxo para valores entre 5° e 19°. <sup>115</sup>

A avaliação da artéria uterina foi realizada bilateralmente, sendo que o ângulo de insonação foi menor que 60°. A presença de uma chanfradura ou incisura na artéria uterina, na fase protodiastólica, é normal até as 24 semanas, principalmente quando for unilateral. <sup>115</sup>

A avaliação dopplervelocimétrica na artéria umbilical foi obtida por corte sagital do cordão umbilical, 3 a 5 cm da inserção placentária, no qual, por meio do doppler colorido pode-se visualizar a pulsação das duas artérias e da veia umbilical. O ângulo entre o feixe e a trajetória do fluxo foi abaixo de 20° e o volume da amostra, 1 a 2 mm posicionado no centro da artéria. <sup>115</sup>

Os resultados dos exames foram registrados em ficha de coleta de dados própria (em anexo), assim com os dados demográficos da amostra. Os resultados dopplervelocimétricos foram comparados às curvas de normalidade previamente descritas na literatura <sup>115</sup> para as idades gestacionais correspondentes e com o grupo controle.

As pacientes incluídas no estudo também foram submetidas à análise da cotinina urinária e CO exalado imediatamente antes de realizarem o exame ultrassonográfico e esses valores foram relacionados com os achados dopplervelocimétricos, buscando-se uma relação da carga tabágica com a resistência vascular.

***Avaliação de monóxido de carbono:*** O aparelho mede a concentração de CO exalado (COex) através de um sensor eletroquímico, expressando-a em partes por milhão (ppm). Para a medição, foi solicitado às gestantes que fizessem uma pausa inspiratória de 20 segundos, a fim de que o CO no sangue entrasse em equilíbrio com o ar alveolar, permitindo ao aparelho estimar com melhor acurácia a concentração de CO no sangue a partir do COex. Após essa pausa, as gestantes foram orientadas a exalar lenta e completamente no bocal do aparelho.

***Avaliação da cotinina urinária:*** Foi utilizado o teste validado por cromatografia líquida de alta performance (HPLC).

A ultrassonografia e o CO exalado foram realizados pela própria pesquisadora, porém a avaliação da cotinina foi realizada no Instituto de Toxicologia da PUCRS, todas pelo mesmo avaliador, que não tinha conhecimento a qual grupo pertencia cada paciente.

### 3.5 DELINEAMENTO

Coorte prospectiva.

### 3.6 ÉTICA

O projeto deste trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e Comissão Científica da Faculdade de Medicina PUCRS, no dia 05/09/2008, protocolo número 08/04319.

Os exames realizados não ofereciam riscos à gestante nem ao feto. Somente foram incluídas aquelas pacientes que, após terem lido o Termo de Consentimento, aceitaram participar da pesquisa. Estavam cientes de que poderiam sair do estudo a qualquer momento se assim desejassem.

### 3.7 ESTATÍSTICA

#### 3.7.1 Tamanho de amostra

Para detectar uma diferença entre os grupos de fumantes e não-fumantes com magnitude de 0,85 desvios-padrão e poder de 90% em nível de significância (alfa) de 5%, estimou-se que seriam necessários 30 pacientes por grupo.

#### 3.7.2 Análise dos Dados

Inicialmente os resultados foram descritos por média  $\pm$  DP (dados contínuos simétricos), por mediana e amplitude (dados contínuos assimétricos) e contagem com percentuais (dados categóricos). Para a comparação de duas médias foi utilizado t de Student e para mais de duas médias, ANOVA. Ajustes para potenciais efeitos confundidores foram feitos por análise de co-variância (ANCOBA) e regressão linear múltipla. O nível de significância adotado foi de alfa = 5%. Os dados foram processados com SPSS versão 15.

As pacientes foram divididas em quatro grupos quanto às dosagens de COex e cotinina, com a finalidade de avaliar a progressão dos índices de resistência em relação aos valores encontrados (Tabela 1).

**Tabela 1 – Distribuição das pacientes nos grupos quanto às dosagens de COex e cotinina.**

<b>Grupos do COex</b>	<b>Grupos da Cotinina</b>
Grupo 1: 0 ppm	Grupo 1: 0 ng/dL
Grupo 2: 1 a 4 ppm	Grupo 2 < 50 ng/dL
Grupo 3: 5 a 10 ppm	Grupo 3: 50 a 500 ng/dL
Grupo 4 $\geq$ 10 ppm	Grupo 4 > 500 ng/dL

Para comparar os índices de resistência e peso fetal ao nascer em relação à idade gestacional de cada paciente, foram utilizados percentis, pois os valores do IR variam ao longo da evolução da gestação. Para o peso, foi utilizada a tabela de Hadlock.<sup>115</sup>

Para a análise dos valores dos índices de resistência, foram utilizados os valores padrões da literatura para os percentis 5,10,25,50,75 e 90.<sup>115</sup>

#### 4 RESULTADOS

Foram estudadas 30 gestantes tabagistas e 34 não tabagistas. Não se observou diferença estatística entre os dois grupos em estudo quanto à idade, ao índice de líquido amniótico, ao abortamento e ao grau da placenta das pacientes do grupo controle e do grupo tabagista. Observou-se diferença quanto à paridade, sendo que as tabagistas apresentaram maior número de gestações e partos do que as não tabagistas. ( Tabela 2)

**Tabela 2 – Características da população em estudo**

	Controle n = 34	Tabagista n = 30	P
Características			
Idade	27,6 ± 6,1	27,3 ± 5,2	0,82
Gestações	2,0 [1 a 5]	3,0 [3 a 11]	0,04
Paridade	1,0 [0 a 4]	1,5 [0 a 7]	0,04
Abortamento	0,0 [0 a 3]	0,0 [ 0 a 3]	0,62
ILA	14,0 ± 2,0	13,3 ± 2,8	0,21
Grau placenta	1 (56%) [0 a 2]	1(70%) [0 a 3]	0,31

Os dados são apresentados como média ± DP ou mediana [mínimo e máximo]. ILA: índice de líquido amniótico.

Idade (anos), gestações, abortos e paridade (número), ILA (cm), Grau Placenta (Conforme classificação de Granumm)<sup>26</sup>, porcentagem tipo 1. P: significância estatística.

Quando foram comparados os dois grupos, sem estratificar por carga tabágica , observou-se aumento significativo dos índices de resistência nas artérias uterinas direita, esquerda e artéria umbilical. O IR na artéria cerebral média mostrou tendência à diminuição, porém não estatisticamente significativo. (Tabela 3)

**Tabela 3 – Percentis do índice de resistência vascular entre gestantes segundo tabagismo alegado**

	Controle n = 34	Tabagista n = 30	P
Percentil do IR			
AUD	37,3 ± 20,0	58,0 ± 23,0	0,001
AUE	38,9 ± 17,6	56,1 ± 19,6	0,001
AU	43,0 ± 19,0	65,0 ± 15,0	0,001
ACM	45,0 ± 15,0	36,3 ± 21,0	0,450

Os dados são apresentados como média ± DP. P: significância estatística obtida por t de Student para amostras independentes.

AUD: artéria uterina direita, AUE: artéria uterina esquerda, AU:artéria umbilical, ACM: artéria cerebral média.

Ao estudar o grupo das tabagistas, com relação aos valores da carga tabágica mensurada através do COex, foi observado aumento nos IR associado a maiores valores obtidos deste marcador, estatisticamente significativos, nas artérias uterinas direita e esquerda, umbilical associado a uma diminuição dos índices de resistência na artéria cerebral média.

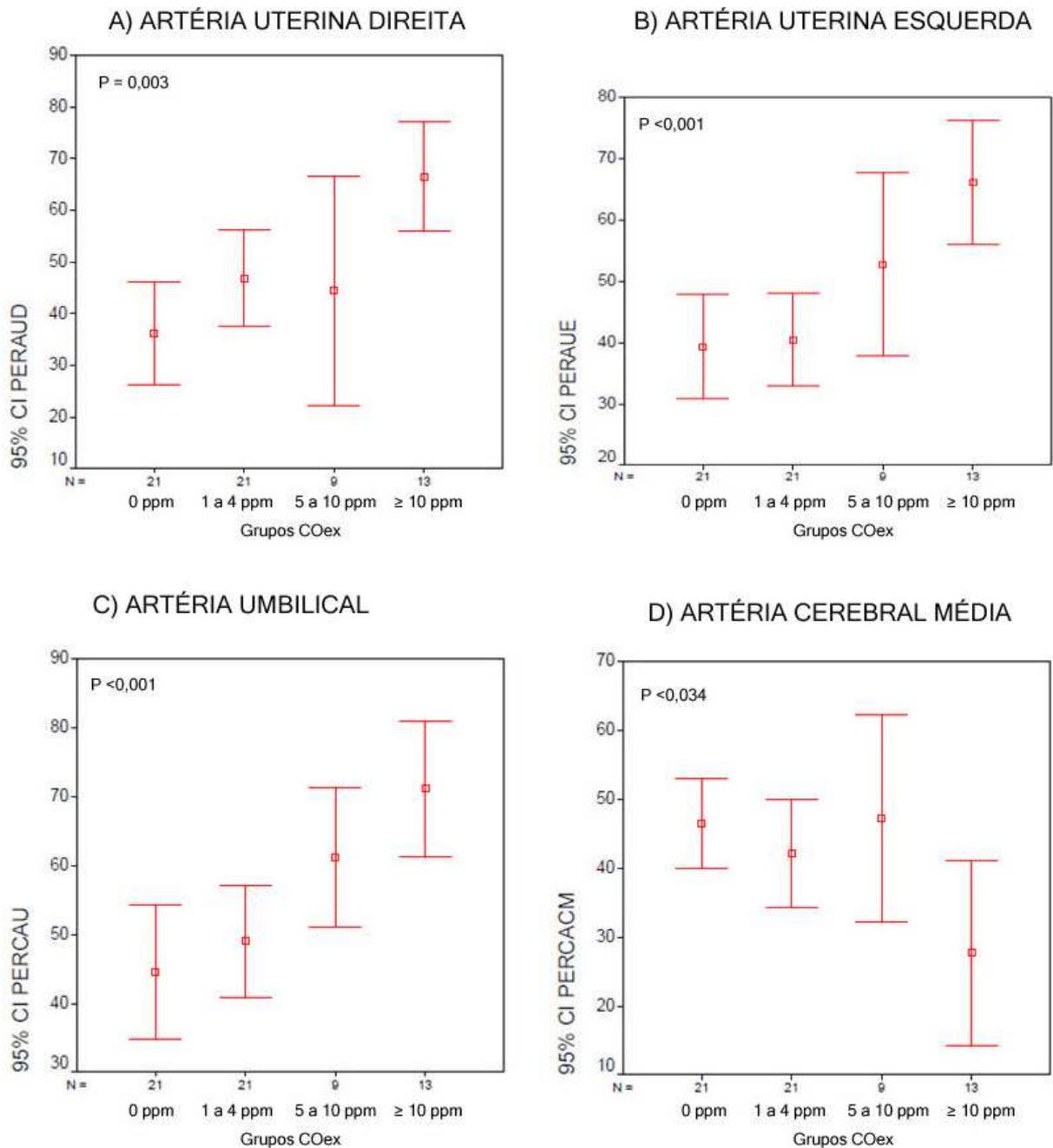
Observou-se diminuição significativa no percentil do peso fetal ao nascimento, também relacionado ao aumento do COex. (Tabela 4)

**Tabela 4 – Percentis do índice de resistência vascular e do peso ao nascer entre quatro grupos segundo exposição ao tabagismo medida pelo monóxido de carbono exalado**

	COex 0 ppm n = 21	COex 1 a 4 ppm n = 21	COex 5 a 9 ppm n = 9	COex ≥ 10 ppm n = 13	P <sup>[1]</sup>	P <sup>[2]</sup>	P <sup>[3]</sup>
Percentil do IR							
AUD	36,2±21,8 [10 a 90]	46,9±20,3 [10 a 75]	44,4±28,9 [10 a 90]	66,5±17,5 [25 a 90]	0,003	<0,001	0,003
AUE	39,3±18,7 [25 a 75]	40,5±16,8 [25 a 75]	52,8±19,5 [25 a 75]	66,1±16,7 [50 a 95]	< 0,001	<0,001	<0,001
AU	44,5±21,3 [10 a 75]	49,1±17,9 [5 a 75]	61,1±13,1 [50 a 75]	71,1±16,2 [50 a 95]	0,001	<0,001	<0,001
ACM	46,4±14,3 [25 a 75]	42,1±17,1 [5 a 75]	47,2±19,5 [25 a 75]	27,7±22,2 [5 a 75]	0,022	<0,001	0,034
Percentil do peso ao nascer	49,05±22,7 [10 a 90]	49,90±25,8 [3 a 90]	41,2±25,3 [3 a 75]	25,1±16,6 [3 a 50]	0,017	<0,001	<0,001

Os dados são apresentados como média±DP [mínimo, máximo]. COex: monóxido de carbono exalado, IR: índice de resistência vascular, AUD: artéria uterina direita, AUE: artéria uterina esquerda, AU: artéria umbilical, ACM: artéria cerebral média. P: significância estatística, [1]: análise de variância - ANOVA - de uma via (*oneway*), [2]: tendência linear obtida em modelo de regressão, [3]: ajustado para idade, número de gestações e ILA em modelo de ANCOVA.

A Figura 2 apresenta de modo gráfico os achados descritos.



**Figura 2 – Percentis dos índices de resistência das artérias em relação aos grupos com valores progressivos do COex .**

Quando o grupo tabagista foi analisado em relação aos valores crescentes de cotinina urinária, verificou-se progressivo aumento, estatisticamente significativo, dos índices de

resistência das artérias uterina esquerda e umbilical. Também observou-se a mesma tendência à elevação na artéria uterina direita, porém sem significância estatística. (Tabela 4 )

A artéria cerebral média evidenciou tendência à diminuição dos índices de resistência relacionada ao aumento da concentração de cotinina urinária, significativa na regressão linear, porém não manteve a significância quando corrigido para os possíveis fatores de confusão, apontados acima.

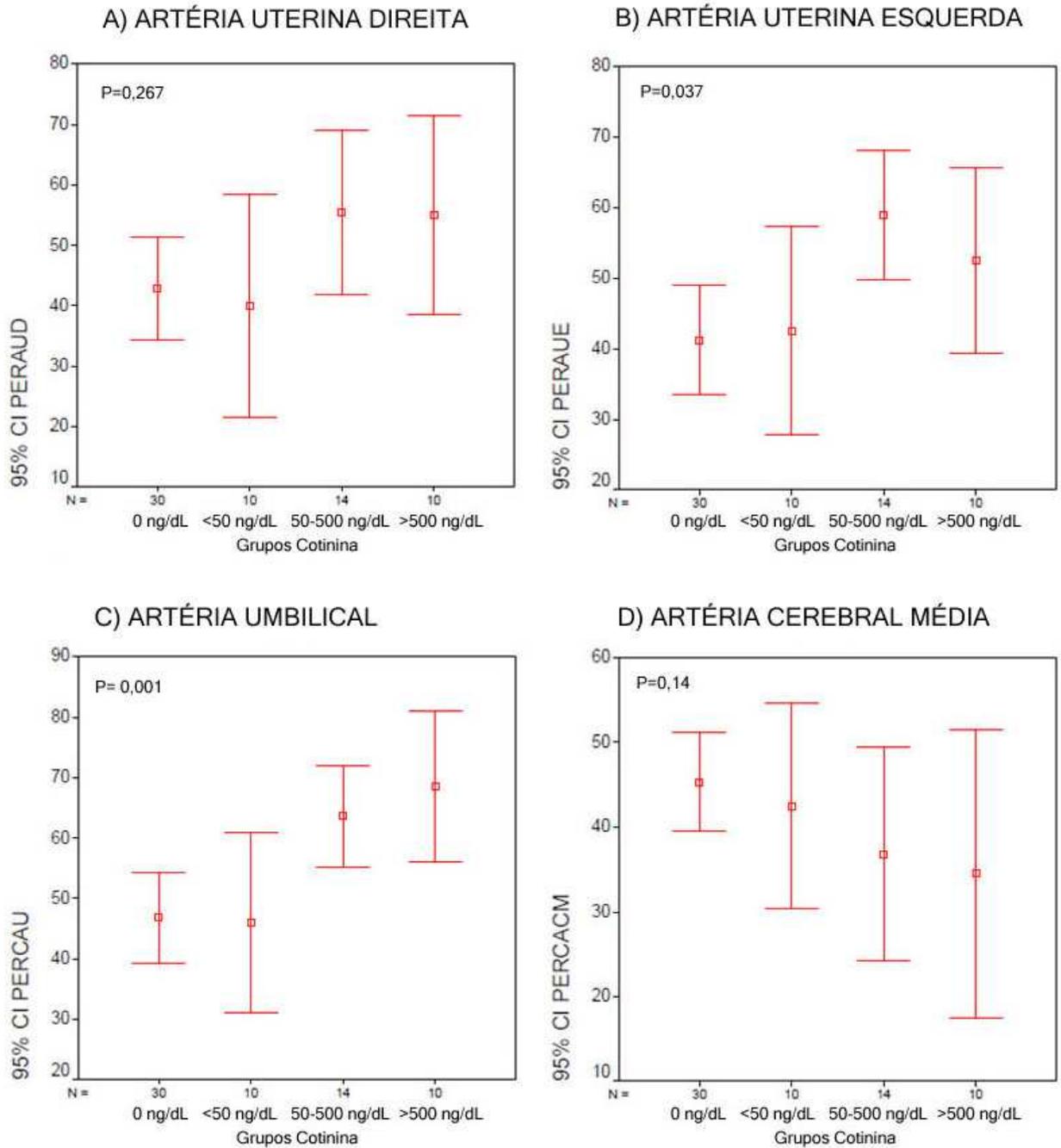
Verificou-se também diminuição estatisticamente significativa do percentil do peso fetal ao nascimento associado ao aumento dos valores da cotinina urinária. (Tabela 5)

**Tabela 5 – Percentis do índice de resistência e do peso ao nascer entre quatro grupos segundo exposição ao tabagismo medida pela cotinina urinária**

	Cotina 0 ng/mL n = 30	Cotina < 50 ng/mL n = 10	Cotina 50 a 500 ng/mL n = 14	Cotina > 500 ng/mL n = 10	$P^{[1]}$	$P^{[2]}$	$P^{[3]}$
Percentil do IR							
AUD	42,8±22,8 [10 a 90]	40,0±25,7 [10 a 90]	55,3±23,5 [10 a 90]	22,9±22,9 [25 a 75]	0,201	0,064	0,267
AUE	41,1±20,8 [25 a 95]	42,5±20,6 [25 a 75]	58,9±15,8 [25 a 75]	52,5±18,4 [25 a 75]	0,033	0,014	0,037
AU	46,8±20,1 [5 a 75]	46,0±21,0 [10 a 75]	63,5±14,6 [50 a 90]	68,5±17,3 [50 a 95]	0,003	<0,001	0,001
ACM	45,3±15,7 [5 a 75]	42,5±16,8 [25 a 75]	36,8±21,8 [5 a 75]	34,5±23,8 [5 a 75]	0,321	0,062	0,14
Percentil do peso ao nascer	45,6 ±21,5 [3 a 90 ]	62,4±24,4 [25 a 90]	36,6 ±24,0 [3 a 90]	27,1±22,8 [3 a 75]	0,006	0,003	0,007

Os dados são apresentados como média±DP [mínimo, máximo]. IR: índice de resistência vascular, AUD: artéria uterina direita, AUE: artéria uterina esquerda, AU: artéria umbilical, ACM: artéria cerebral média. P: significância estatística, [1]: análise de variância - ANOVA - de uma via (*oneway*), [2]: tendência linear obtida em modelo de regressão, [3]: ajustado para idade, gestação e ILA em modelo de ANCOVA.

A figura 3 apresenta de modo gráfico os achados descritos.



**Figura 3 – Percentis dos índices de resistência das artérias em relação aos grupos com valores progressivos de cotinina urinária.**

## 5 DISCUSSÃO

Os efeitos do tabagismo na gestação vêm sendo estudados desde a década de 50.<sup>53</sup> O uso de cigarro é a principal causa prevenível de crescimento intra-uterino restrito, e essa doença associa-se ao aumento das taxas de prematuridade, de mortalidade perinatal e permanece tendo interferência no desenvolvimento da criança ao longo da infância.<sup>48, 116</sup>

Ainda continua em discussão, na literatura, quais seriam os mecanismos responsáveis pela restrição de crescimento fetal causada pelo cigarro. Estudos prévios<sup>22, 62, 117</sup> buscaram estudar as repercussões do tabagismo no fluxo materno-fetal, porém foi utilizado, como quantificação da carga tabágica, o número de cigarros fumados informados pelas pacientes. A literatura mostra que estes dados informados pelas gestantes tabagistas nem sempre são confiáveis<sup>80</sup>, o que pode justificar a heterogenicidade dos resultados encontrados nos estudos anteriores.<sup>80</sup>

Devido aos achados prévios da literatura, optou-se por realizar medidas bioquímicas quantitativas para avaliar a carga tabágica e não se basear somente nas informações fornecidas pelas pacientes. As gestantes metabolizam a cotinina mais rapidamente do que as não gestantes,<sup>79</sup> além de existir outras exposições que dificilmente são corrigidas quando usa-se o número de cigarros fumados, optou-se por usar somente medidas objetivas. Para tal, medidas quantitativas já estabelecidas na literatura, como o CO exalado e cotinina urinária, foram aqui aplicadas.<sup>83, 89</sup>

As pacientes foram selecionadas no ambulatório de baixo risco, tendo-se o cuidado de excluir pacientes com doenças associadas. Ao serem contatadas via telefone, já eram informadas resumidamente sobre o estudo e agendada a entrevista. A mesma foi marcada no horário da tarde, para tentar diminuir o intervalo do tempo sem fumar, buscando-se não perder o poder de detecção do COex. Observou-se que nenhuma paciente tinha intervalo maior que 6 horas após fumar o último cigarro, fato que pode ter contribuído com os achados do COex. A entrevistadora tinha conhecimento quanto ao status tabágico, pois era a mesma que realizava a ecografia (mestranda), porém tentou-se minimizar os efeitos da técnica operador dependente da ultrassonografia com a realização de três medidas diferentes e a realização de uma média. O avaliador da cotinina e dos dados estatísticos foi cego quanto aos grupos.

Os dados encontrados no presente estudo foram compatíveis com os relatos das pacientes em relação ao status tabágico (tabagista x não tabagista), talvez influenciado pelo fato de saberem que seriam submetidas a uma avaliação quantitativa logo após a entrevista. Confirmou-se que as gestantes tem metabolismo mais rápido, pois os valores da cotinina e COex foram inferiores aos esperados pelo número de cigarros fumados (conforme relato do número médio de cigarros fumados/dia). Devido ao fato de os dados não serem equivalentes, possibilidade de depuração individual, valores estabelecidos para não gestantes serem diferentes, além de mensurar o tabagismo passivo, optou-se por utilizar somente as mediadas quantitativas. Observou-se que pacientes que relataram fumar o mesmo número de cigarros, tinham valores de COex e cotinina diferentes, fato que pode explicar a heterogenicidade dos resultados da literatura quando levamos em conta somente o número de cigarros fumados.

Foi realizado um estudo com pacientes com características semelhantes, como idade, índice de líquido amniótico e grau placentário. Ainda realizou-se correção para idade, gestações e índice de líquido amniótico para tentar diminuir os possíveis vieses de confusão.

Excluíram-se gestantes com qualquer doença prévia à gestação ou até mesmo gestacional e uso de medicações que pudessem interferir no fluxo sanguíneo materno-fetal.

Os resultados aqui apresentados confirmam a influência do tabagismo na gestação, pela observação de um padrão de perfusão materno-fetal com características de hipóxia crônica entre as fumantes. Apesar de os valores dos índices estudados estarem dentro da normalidade clínica, encontrou-se nas gestantes fumantes situação semelhante ao fenômeno de centralização, com aumento do IR na artéria umbilical e diminuição na artéria cerebral média. Para caracterizar o processo de centralização propriamente dito, necessita-se que a relação dos valores de IR da artéria umbilical sobre a cerebral média seja igual ou maior a 1.<sup>115</sup> Infere-se, portanto, que o feto de mãe fumante apresenta, em função da diminuição do fluxo placentário, condição predisponente para hipóxia tecidual, fato que, associado às demais ações do tabaco, podem explicar os achados de tendência à centralização, como o encontrado.

Tem-se sugerido que, quando ocorre hipóxia fetal, pode haver centralização do fluxo, refletindo diminuição periférica e aumento na circulação central fetal, efeito denominado de preservação cerebral.<sup>117</sup> Embora o conhecimento destes ajustes circulatório e seu mecanismo de ação seja incompleto, provavelmente, quando a pressão parcial de O<sub>2</sub> diminui e a de CO<sub>2</sub> se eleva acima de um certo nível, os quimiorreceptores aórticos e carotídeos podem ser

ativados, regulando a resposta vasodilatadora central com a finalidade de garantir adequada oxigenação ao cérebro fetal.<sup>118</sup>

Ao comparar as tabagistas alegadas, isto é, utilizando-se somente a informação da paciente, com o grupo controle, observou-se aumento estatisticamente significativo dos índices de resistência nas artérias uterinas e umbilical. Na cerebral média, houve diminuição dos índices de resistência nas tabagistas quando comparadas ao grupo controle, porém não significativo, provavelmente devido ao tamanho insuficiente da amostra.

Optou-se por classificar as pacientes tabagistas em grupos progressivos quanto às medidas de COex e cotinina, buscando eventual associação da elevação dos índices de resistência e os desfechos aqui estudados. Aproveitou-se o fato de os valores de corte tanto do COex como da cotinina serem divergentes na literatura, também, para observar a partir de que níveis iniciaria a alteração.

Ao estudar as tabagistas em grupos estratificados quanto a valores crescentes de COex, observou-se aumento dos índices de resistência relacionado à elevação dos níveis de COex nas medidas das artérias uterinas e umbilical e diminuição na resistência da artéria cerebral média, todos estatisticamente significativos, mesmo quando corrigido para possíveis fatores de confusão. As pacientes tabagistas desse estudo tinham fumado até 6 horas antes das medidas, o que pode ter tornado os valores de COex mais fidedignos.

Observou-se, também, aumento dos índices de resistência das artérias uterina esquerda e umbilical associado aos valores crescentes da cotinina urinária, estatisticamente significativo. A artéria uterina direita também mostrou tendência à elevação da resistividade, porém não significativa. Ao analisar através da regressão linear, detectou-se aumento da força da associação, o que confirma essa tendência, provavelmente prejudicada pelo número insuficiente de pacientes analisadas. A artéria cerebral média evidenciou tendência de diminuição de resistência com o aumento da cotinina, porém não significativa, mas também com aumento da força de associação na regressão linear.

Quanto ao peso ao nascer, tanto para a cotinina urinária quanto para o COex, observou-se diminuição do peso associado ao aumento da carga tabágica, estatisticamente significativo. O fumo durante a gestação já é sabidamente um fator que pode influenciar ou até mesmo assumir um aspecto determinante no baixo peso ao nascimento. O tabagismo continua como a

principal causa prevenível de crescimento intra-uterino restrito e tamanho pequeno para a idade gestacional (PIG).<sup>51</sup> Apesar de existirem fatores ambientais e genéticos que também influenciam no peso fetal, está definida a relação causal entre tabagismo e o nascimento de PIGs.<sup>52</sup> Em 1957, Simpson e colaboradores<sup>53</sup> verificaram que recém-nascidos de mães que fumavam mais de 10 cigarros por dia pesavam cerca de 200g a menos do que os de mães não fumantes. Outros estudos repetiram esses achados e mostraram repetidamente a persistência dessa associação com riscos relativos estimados de 1,5 a 2,9.<sup>119</sup> A causalidade tem sido reforçada com estudos que mostram uma relação dose-resposta e melhora no peso quando as mães param de fumar durante a gestação.<sup>52, 55-57</sup> Ueda e colaboradores<sup>120</sup> e Matsubara e colaboradores<sup>121</sup> afirmam que o baixo peso ao nascer está relacionado ao fumo materno, o que pode alterar o ambiente intra-uterino e causar distúrbio fetal do crescimento. Steyn et al<sup>122</sup> encontraram um aumento de 166 g no peso de recém nascidos de mães não fumantes em relação aos das fumantes. Ward e colaboradores<sup>58</sup>, quando compararam a incidência de baixo peso em recém nascidos de mães fumantes e não fumantes, encontraram um aumento significativo no risco de baixo peso ao nascer entre os recém nascidos de mães tabagistas (Odds Ratio ajustado de 1,92). Portanto, o presente estudo confirmou os achados prévios da literatura quanto à alteração do peso fetal ao nascer e ainda observou-se tendência em diminuir o peso com o aumento da cotinina urinária e COex.

Verificaram-se alterações estaticamente significativas, possivelmente relacionadas a um forte efeito do fator em estudo, pois mesmo com um número pequeno de pacientes nos grupos estratificados quanto aos níveis de COex e cotinina urinária, observou-se significância estatística entre os grupos.

Nesse estudo, foram incluídas gestantes sem qualquer doença, mas devido à alta prevalência do tabagismo, encontrar pacientes com alguma doença obstétrica associada é uma situação relativamente freqüente. Especula-se que, nestes casos, o efeito aqui demonstrado da hipóxia crônica para o feto pode tomar proporções muito maiores, pois o acréscimo desta hipóxia oriunda do tabagismo ao sofrimento de base desse feto por outra doença pode representar o limiar entre normalidade e a centralização propriamente dita.

Vários estudos já foram feitos para detectar os efeitos do tabaco sobre os parâmetros de dopplervelocimetria obstétrica, e até hoje ainda procura-se entender a verdadeira influência do cigarro no fluxo materno-fetal.

Eriksen e Marsal<sup>123</sup> estudaram gestantes fumantes antes e imediatamente após fumarem um cigarro, constatando aumento da frequência cardíaca e da pressão arterial maternas, além de aumento da frequência cardíaca fetal. Paralelamente, observaram significativo aumento transitório do fluxo sanguíneo na veia umbilical e aorta fetal.

Morrow et al.<sup>124</sup>, com método semelhante, confirmaram esses achados e ainda observaram aumento da relação sístole/diástole (S/D) na artéria umbilical após o fumo, mas não na artéria uterina. Concluíram que o tabagismo causou considerável mudança na circulação feto-placentária, similares às aquelas no retardo de crescimento fetal, sendo indicativos de resistência vascular placentária aumentada.

Os estudos baseados no efeito agudo do cigarro encontraram aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca materna associado ao aumento da frequência cardíaca fetal. Tais alterações hemodinâmicas influenciam a velocidade de fluxo das artérias uterinas e umbilical, dificultando a interpretação da ação do tabagismo sobre o sistema vascular materno-fetal.

Kimya et al.<sup>92</sup> estudaram 22 gestantes fumantes e 21 não-fumantes, medindo o IP, IR e S/D das artérias uterinas e umbilical antes e após fumarem um cigarro padrão. Não encontraram nenhuma mudança significativa na dopplervelocimetria que pudesse ser atribuída ao efeito agudo do cigarro, porém todos os índices foram estatisticamente maiores no grupo de fumantes em comparação com o grupo controle, tanto antes quanto após o uso de cigarro. Concluem que o tabagismo crônico causou aumento na resistência vascular da placenta e do cordão umbilical.

Pinto e Botelho<sup>125</sup> encontraram resultados semelhantes ao presente estudo, com aumento de resistência vascular tanto na artéria uterina quanto na artéria umbilical, confirmando o efeito crônico do tabagismo alegado. Este aumento de resistência vascular encontrado em ambos os estudos, no entanto, não alcançou valores patológicos de referência da dopplervelocimetria.

Albuquerque e colaboradores<sup>62</sup> compararam 74 gestantes tabagistas com 69 controles, classificadas conforme o status tabágico fornecido pelas pacientes. Concluíram que o tabagismo crônico materno está associado com evidência de aumento na resistência das artérias uterinas, umbilicais e cerebral média fetal.<sup>62</sup>

Este trabalho acrescenta aos estudos descritos que existe associação da gravidade das alterações vasculares de acordo com o aumento dos níveis de COex e cotinina urinária, ou seja, que os índices de resistência do leito placentário tendem a subir com o aumento quantitativo da carga tabágica. Quando o IR aumenta, a quantidade de sangue e, conseqüentemente, de oxigênio transportados para o feto diminui, em resposta, o feto tende a criar um mecanismo compensatório à diminuição da perfusão tecidual, o que pode ser demonstrado através da tendência de diminuição da resistência na artéria cerebral média.

## **6 CONCLUSÃO**

Neste estudo, detectou-se, por dopplervelocimetria em artérias uterinas, umbilical e cerebral média, alterações compatíveis com hipóxia crônica associada a possíveis mecanismos de compensação fetal para manter sua homeostase e diminuição do peso fetal ao nascimento, crescentes em relação às medidas de COex e cotinina urinária.

## REFERÊNCIAS

1. Research for International Tobacco Control. In: WHO report on the global tobacco epidemic. The MPower Package; 2008.
2. Ezzati M, Lopez AD. Estimates of global mortality attributable to smoking in 2000. *Lancet* 2003;362(9387):847-52.
3. Zarocostas J. WHO report warns deaths from tobacco could rise beyond eight million a year by 2030. *BMJ* 2008;336(7639):299.
4. Fiore MC, Croyle RT, Curry SJ, et al. Preventing 3 million premature deaths and helping 5 million smokers quit: a national action plan for tobacco cessation. *Am J Public Health* 2004;94(2):205-10.
5. Osler M, Prescott E, Godtfredsen N, Hein HO, Schnohr P. Gender and determinants of smoking cessation: a longitudinal study. *Prev Med* 1999;29(1):57-62.
6. Bohadana A, Nilsson F, Rasmussen T, Martinet Y. Gender differences in quit rates following smoking cessation with combination nicotine therapy: influence of baseline smoking behavior. *Nicotine Tob Res* 2003;5(1):111-6.
7. Wetter DW, Kenford SL, Smith SS, Fiore MC, Jorenby DE, Baker TB. Gender differences in smoking cessation. *J Consult Clin Psychol* 1999;67(4):555-62.
8. Brasil. Abordagem e Tratamento do Fumante. In: Ministério da Saúde Instituto Nacional do Câncer 2001.
9. Cavalcante T. [The Brazilian experience with tobacco control policies]. *Salud Publica Mex* 2004;46(6):549-58.
10. Monteiro CA, Cavalcante TM, Moura EC, Claro RM, Szwarcwald CL. Population-based evidence of a strong decline in the prevalence of smokers in Brazil (1989-2003). *Bull World Health Organ* 2007;85(7):527-34.
11. Champion P, Owen L, McNeill A, McGuire C. Evaluation of a mass media campaign on smoking and pregnancy. *Addiction* 1994;89(10):1245-54.
12. Kroeff LR, Mengue SS, Schmidt MI, Duncan BB, Favaretto AL, Nucci LB. [Correlates of smoking in pregnant women in six Brazilian cities]. *Rev Saude Publica* 2004;38(2):261-7.
13. Woodby LL, Windsor RA, Snyder SW, Kohler CL, Diclemente CC. Predictors of smoking cessation during pregnancy. *Addiction* 1999;94(2):283-92.

14. DiFranza JR, Aligne CA, Weitzman M. Prenatal and postnatal environmental tobacco smoke exposure and children's health. *Pediatrics* 2004;113(4 Suppl):1007-15.
15. Halal IS, Victora CG, Barros FC. [Determining factors of smoking habit and its cessation during pregnancy in a urban locality in the southern region of Brazil]. *Rev Saude Publica* 1993;27(2):105-12.
16. Graham H. Smoking in pregnancy: the attitudes of expectant mothers. *Soc Sci Med* 1976;10(7-8):399-405.
17. McNutt LA, Carlson BE, Persaud M, Postmus J. Cumulative abuse experiences, physical health and health behaviors. *Ann Epidemiol* 2002;12(2):123-30.
18. Wergeland E, Strand K, Bjerkedal T. Smoking in pregnancy: a way to cope with excessive workload? *Scand J Prim Health Care* 1996;14(1):21-8.
19. Pastrakuljic A, Schwartz R, Simone C, Derewlany LO, Knie B, Koren G. Transplacental transfer and biotransformation studies of nicotine in the human placental cotyledon perfused in vitro. *Life Sci* 1998;63(26):2333-42.
20. Salafia C, Shiverick K. Cigarette smoking and pregnancy II: vascular effects. *Placenta* 1999;20(4):273-9.
21. Lambers DS, Clark KE. The maternal and fetal physiologic effects of nicotine. *Semin Perinatol* 1996;20(2):115-26.
22. Castro LC, Allen R, Ogunyemi D, Roll K, Platt LD. Cigarette smoking during pregnancy: acute effects on uterine flow velocity waveforms. *Obstet Gynecol* 1993;81(4):551-5.
23. Jauniaux E, Burton GJ. The effect of smoking in pregnancy on early placental morphology. *Obstet Gynecol* 1992;79(5):645-8.
24. Shiverick KT, Salafia C. Cigarette smoking and pregnancy I: ovarian, uterine and placental effects. *Placenta* 1999;20(4):265-72.
25. Klesges LM, Murray DM, Brown JE, Cliver SP, Goldenberg RL. Relations of cigarette smoking and dietary antioxidants with placental calcification. *Am J Epidemiol* 1998;147(2):127-35.
26. Grannum PA, Berkowitz RL, Hobbins JC. The ultrasonic changes in the maturing placenta and their relation to fetal pulmonic maturity. *Am J Obstet Gynecol* 1979;133(8):915-22.

27. Mayhew TM. Patterns of villous and intervillous space growth in human placentas from normal and abnormal pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1996;68(1-2):75-82.
28. Pfarrer C, Macara L, Leiser R, Kingdom J. Adaptive angiogenesis in placentas of heavy smokers. *Lancet* 1999;354(9175):303.
29. Genbacev O, McMaster MT, Zdravkovic T, Fisher SJ. Disruption of oxygen-regulated responses underlies pathological changes in the placentas of women who smoke or who are passively exposed to smoke during pregnancy. *Reprod Toxicol* 2003;17(5):509-18.
30. Bush PG, Mayhew TM, Abramovich DR, Aggett PJ, Burke MD, Page KR. A quantitative study on the effects of maternal smoking on placental morphology and cadmium concentration. *Placenta* 2000;21(2-3):247-56.
31. Larsen LG, Clausen HV, Jonsson L. Stereologic examination of placentas from mothers who smoke during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186(3):531-7.
32. Genbacev O, Joslin R, Damsky CH, Polliotti BM, Fisher SJ. Hypoxia alters early gestation human cytotrophoblast differentiation/invasion in vitro and models the placental defects that occur in preeclampsia. *J Clin Invest* 1996;97(2):540-50.
33. Wang XL, Sim AS, Wang MX, Murrell GA, Trudinger B, Wang J. Genotype dependent and cigarette specific effects on endothelial nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity. *FEBS Lett* 2000;471(1):45-50.
34. Piasek M, Blanusa M, Kostial K, Laskey JW. Placental cadmium and progesterone concentrations in cigarette smokers. *Reprod Toxicol* 2001;15(6):673-81.
35. Zhu BT, Cai MX, Spink DC, et al. Stimulatory effect of cigarette smoking on the 15 alpha-hydroxylation of estradiol by human term placenta. *Clin Pharmacol Ther* 2002;71(5):311-24.
36. Pastrakuljic A, Derewlany LO, Koren G. Maternal cocaine use and cigarette smoking in pregnancy in relation to amino acid transport and fetal growth. *Placenta* 1999;20(7):499-512.
37. Collier AC, Tingle MD, Paxton JW, Mitchell MD, Keelan JA. Metabolizing enzyme localization and activities in the first trimester human placenta: the effect of maternal and gestational age, smoking and alcohol consumption. *Hum Reprod* 2002;17(10):2564-72.
38. Zdravkovic T, Genbacev O, McMaster MT, Fisher SJ. The adverse effects of maternal smoking on the human placenta: a review. *Placenta* 2005;26 Suppl A:S81-6.
39. Benowitz NL. Nicotine replacement therapy during pregnancy. *JAMA* 1991;266(22):3174-7.

40. Newnham JP, Patterson L, James I, Reid SE. Effects of maternal cigarette smoking on ultrasonic measurements of fetal growth and on Doppler flow velocity waveforms. *Early Hum Dev* 1990;24(1):23-36.
41. Ginzel KH, Maritz GS, Marks DF, et al. Critical review: nicotine for the fetus, the infant and the adolescent? *J Health Psychol* 2007;12(2):215-24.
42. Hukkanen J, Jacob P, 3rd, Benowitz NL. Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacol Rev* 2005;57(1):79-115.
43. Coburn RF. Endogenous carbon monoxide production. *N Engl J Med* 1970;282(4):207-9.
44. Fechter LD, Annau Z. Prenatal carbon monoxide exposure alters behavioral development. *Neurobehav Toxicol* 1980;2(1):7-11.
45. Longo LD. The biological effects of carbon monoxide on the pregnant woman, fetus, and newborn infant. *Am J Obstet Gynecol* 1977;129(1):69-103.
46. Leopercio W GA. Tabagismo e suas peculiaridades durante a gestação: uma revisão crítica. *J Bras Pneumol* 2004;30(2):176-85.
47. Women and smoking: a report of the Surgeon General. Executive summary. *MMWR Recomm Rep* 2002;51(RR-12):i-iv; 1-13.
48. Castles A, Adams EK, Melvin CL, Kelsch C, Boulton ML. Effects of smoking during pregnancy. Five meta-analyses. *Am J Prev Med* 1999;16(3):208-15.
49. Mitsiakos G, Giougi E, Papaioannou G, Karagianni P, Papadakis E, Nikolaidis N. Influence of smoking during pregnancy on haemostasis in healthy full term neonates. *Thromb Res* 2009;123(3):476-81.
50. Butler NR, Goldstein H, Ross EM. Cigarette smoking in pregnancy: its influence on birth weight and perinatal mortality. *Br Med J* 1972;2(5806):127-30.
51. Aagaard-Tillery KM, Porter TF, Lane RH, Varner MW, Lacoursiere DY. In utero tobacco exposure is associated with modified effects of maternal factors on fetal growth. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198(1):66 e1-6.
52. Hammoud AO, Bujold E, Sorokin Y, Schild C, Krapp M, Baumann P. Smoking in pregnancy revisited: findings from a large population-based study. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192(6):1856-62; discussion 62-3.
53. Simpson WJ. A preliminary report on cigarette smoking and the incidence of prematurity. *Am J Obstet Gynecol* 1957;73(4):807-15.

54. Cnattingius S. The epidemiology of smoking during pregnancy: smoking prevalence, maternal characteristics, and pregnancy outcomes. *Nicotine Tob Res* 2004;6 Suppl 2:S125-40.
55. Secker-Walker RH, Vacek PM. Relationships between cigarette smoking during pregnancy, gestational age, maternal weight gain, and infant birthweight. *Addict Behav* 2003;28(1):55-66.
56. Johnsen SL, Rasmussen S, Wilsgaard T, Sollien R, Kiserud T. Longitudinal reference ranges for estimated fetal weight. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006;85(3):286-97.
57. Wang X, Zuckerman B, Pearson C, et al. Maternal cigarette smoking, metabolic gene polymorphism, and infant birth weight. *JAMA* 2002;287(2):195-202.
58. Ward C, Lewis S, Coleman T. Prevalence of maternal smoking and environmental tobacco smoke exposure during pregnancy and impact on birth weight: retrospective study using Millennium Cohort. *BMC Public Health* 2007;7:81.
59. Fasting MH, Oien T, Storro O, Nilsen TI, Johnsen R, Vik T. Maternal smoking cessation in early pregnancy and offspring weight status at four years of age. A prospective birth cohort study. *Early Hum Dev* 2009;85(1):19-24.
60. Wisborg K, Kesmodel U, Henriksen TB, Olsen SF, Secher NJ. A prospective study of smoking during pregnancy and SIDS. *Arch Dis Child* 2000;83(3):203-6.
61. Mello PR, Pinto GR, Botelho C. [The influence of smoking on fertility, pregnancy and lactation]. *J Pediatr (Rio J)* 2001;77(4):257-64.
62. Albuquerque CA, Smith KR, Johnson C, Chao R, Harding R. Influence of maternal tobacco smoking during pregnancy on uterine, umbilical and fetal cerebral artery blood flows. *Early Hum Dev* 2004;80(1):31-42.
63. Blacquiere MJ, Timens W, Melgert BN, Geerlings M, Postma DS, Hylkema MN. Maternal smoking during pregnancy induces airway remodeling in mice offspring. *Eur Respir J* 2009.
64. Key AP, Ferguson M, Molfese DL, Peach K, Lehman C, Molfese VJ. Smoking during pregnancy affects speech-processing ability in newborn infants. *Environ Health Perspect* 2007;115(4):623-9.
65. Chang JS. Parental smoking and childhood leukemia. *Methods Mol Biol* 2009;472:103-37.
66. Engel SM, Janevic TM, Stein CR, Savitz DA. Maternal smoking, preeclampsia, and infant health outcomes in New York City, 1995-2003. *Am J Epidemiol* 2009;169(1):33-40.

67. Kendrick JS, Zahniser SC, Miller N, et al. Integrating smoking cessation into routine public prenatal care: the Smoking Cessation in Pregnancy project. *Am J Public Health* 1995;85(2):217-22.
68. Windsor RA, Lowe JB, Perkins LL, et al. Health education for pregnant smokers: its behavioral impact and cost benefit. *Am J Public Health* 1993;83(2):201-6.
69. Aranda Regules JM, Mateos Vilchez P, Gonzalez Villalba A, Sanchez F, Luna del Castillo Jde D. [Validity of smoking measurements during pregnancy: specificity, sensitivity and cut-off points]. *Rev Esp Salud Publica* 2008;82(5):535-45.
70. Santos S SF, Iamont V. Marcadores Biológicos do Tabagismo. *Pneumologia Paulista: órgão informativo da sociedade paulista de pneumologia e fisiologia* 2008;21(2).
71. Haley NJ, Sepkovic DW, Hoffmann D. Elimination of cotinine from body fluids: disposition in smokers and nonsmokers. *Am J Public Health* 1989;79(8):1046-8.
72. Wu FY, Chiu HT, Wu HD, Lin CJ, Lai JS, Kuo HW. Comparison of urinary and plasma cotinine levels during the three trimesters of pregnancy. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2008;22(3):296-301.
73. Chatkin R, Chatkin JM. [Smoking and changes in body weight: can physiopathology and genetics explain this association?]. *J Bras Pneumol* 2007;33(6):712-9.
74. Benowitz NL. Measurement in the analysis and treatment of smoking behavior. *National Institute on Drug Abuse Research Monograph* 1983;48:6-26.
75. Klebanoff MA LR, Clemens JD, DerSimonian R, Wilkins DG. . Serum cotinine concentration and self-reported smoking during pregnancy. *Am J Epidemiol* 1998;148(3):259-62.
76. Mello PRB OT, Dores EFGC, Botelho C. Marcadores de exposição tabágica em ratas lactantes utilizando um modelo de exposição passiva desdeo início da gestação. *Pulmão RJ* 2005;14(4):289-93.
77. Karaconji IB SL, Karaciv V. Determination of nicotine and cotinine in urine by headspace solid phase microextraction gas chromatography with mass spectrometric detection. *Acta Chim Slov* 2007;54:74-8.
78. Benowitz NL, Jacob P, 3rd. Effects of cigarette smoking and carbon monoxide on nicotine and cotinine metabolism. *Clin Pharmacol Ther* 2000;67(6):653-9.
79. Biochemical verification of tobacco use and cessation. *Nicotine Tob Res* 2002;4(2):149-59.

80. Caraballo RS, Giovino GA, Pechacek TF. Self-reported cigarette smoking vs. serum cotinine among U.S. adolescents. *Nicotine Tob Res* 2004;6(1):19-25.
81. Blackford AL, Yang G, Hernandez-Avila M, et al. Cotinine concentration in smokers from different countries: relationship with amount smoked and cigarette type. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15(10):1799-804.
82. Montalto NJ, Wells WO. Validation of self-reported smoking status using saliva cotinine: a rapid semiquantitative dipstick method. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16(9):1858-62.
83. Cattaneo R AA, Sagebin FR, Abreu CM, Petersen GO, Chatkin JM., . Validação do método para determinação de cotinina em urina por cromatografia líquida de alta eficiência. *Revista Brasileira de Toxicologia* 2006;19:25-31.
84. Jones-Burton C VG, Brown J, Dowling TC, Fink JC. Urinary cotinine as an objective measure of cigarette smoking in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2008;22(7):1950-4.
85. Roza MR, Viegas CA. The dog as a passive smoker: effects of exposure to environmental cigarette smoke on domestic dogs. *Nicotine Tob Res* 2007;9(11):1171-6.
86. Etter JF, Vu Duc T, Perneger TV. Saliva cotinine levels in smokers and nonsmokers. *Am J Epidemiol* 2000;151(3):251-8.
87. Rebagliato M. Validation of self reported smoking. *J Epidemiol Community Health* 2002;56(3):163-4.
88. de Oliveira MV dOT, Pereira CA, Bonfim AV, Filho FS, Voss LR. Smoking among hospitalized patients in a general hospital. *J Bras Pneumol* 2008;34(11):936-41.
89. Santos UP GS, Abe J, Esteves P, Filho MF, Wakassa T B, Issa J S, Terra-Filho M, Stelmach R, Culkier A. Emprego da determinação de monóxido de carbono no ar exalado para a detecção do consumo de tabaco. *J Pneumol* 2001;27(5):231-6.
90. Reichert J dAA, Gonçalves CM, Godoy I, Chatkin JM, Sales Mda P et al. Brazilian smoking cessation guidelines 2008 (Diretrizes para a cessação do tabagismo no Brasil). *J Bras Pneumol* 2008;34(10):845-80.
91. Cropsey KL, Eldridge GD, Weaver MF, Villalobos GC, Stitzer ML. Expired carbon monoxide levels in self-reported smokers and nonsmokers in prison. *Nicotine Tob Res* 2006;8(5):653-9.
92. Kimya Y, Cengiz C, Ozan H, Kolsal N. Acute Effects of Maternal Smoking on the Uterine and Umbilical Artery Blood Velocity Waveforms. *J Matern Fetal Investig* 1998;8(2):79-81.

93. Brosens I, Robertson WB, Dixon HG. The physiological response of the vessels of the placental bed to normal pregnancy. *J Pathol Bacteriol* 1967;93(2):569-79.
94. Robertson WB, Brosens I, Dixon HG. The pathological response of the vessels of the placental bed to hypertensive pregnancy. *J Pathol Bacteriol* 1967;93(2):581-92.
95. Valentin L, Sladkevicius P, Laurini R, Soderberg H, Marsal K. Uteroplacental and luteal circulation in normal first-trimester pregnancies: Doppler ultrasonographic and morphologic study. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174(2):768-75.
96. Khong TY, De Wolf F, Robertson WB, Brosens I. Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by pre-eclampsia and by small-for-gestational age infants. *Br J Obstet Gynaecol* 1986;93(10):1049-59.
97. Pijnenborg R, Bland JM, Robertson WB, Brosens I. Uteroplacental arterial changes related to interstitial trophoblast migration in early human pregnancy. *Placenta* 1983;4(4):397-413.
98. Nicolaides KH, Hecher K. Doppler studies in fetal hypoxemic hypoxia. *Placental and fetal Doppler* 2000:66-83.
99. Khong TY. Acute atherosclerosis in pregnancies complicated by hypertension, small-for-gestational-age infants, and diabetes mellitus. *Arch Pathol Lab Med* 1991;115(7):722-5.
100. Trudinger BJ, Giles WB, Cook CM, Bombardieri J, Collins L. Fetal umbilical artery flow velocity waveforms and placental resistance: clinical significance. *Br J Obstet Gynaecol* 1985;92(1):23-30.
101. Trudinger BJ, Giles WB, Cook CM. Uteroplacental blood flow velocity-time waveforms in normal and complicated pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1985;92(1):39-45.
102. Wladimiroff JW, Tonge HM, Stewart PA. Doppler ultrasound assessment of cerebral blood flow in the human fetus. *Br J Obstet Gynaecol* 1986;93(5):471-5.
103. Trudinger BJ, Stevens D, Connelly A, et al. Umbilical artery flow velocity waveforms and placental resistance: the effects of embolization of the umbilical circulation. *Am J Obstet Gynecol* 1987;157(6):1443-8.
104. Saling E. [New research results on the blood circulation of the newborn infant immediately after birth.]. *Arch Gynakol* 1960;194:287-306.
105. Miyamura T, Masuzaki H, Miyamoto M, Ishimaru T. Comparison between the single deepest pocket and amniotic fluid index in predicting fetal distress in small-for-gestational age fetuses. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997;76(2):123-7.

106. Bilardo CM, Wolf H, Stigter RH, et al. Relationship between monitoring parameters and perinatal outcome in severe, early intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004;23(2):119-25.
107. Arduini D, Rizzo G, Romanini C. Changes of pulsatility index from fetal vessels preceding the onset of late decelerations in growth-retarded fetuses. *Obstet Gynecol* 1992;79(4):605-10.
108. Carrera J. Estudio hemodinámico del deterioro fetal en el crecimiento intrauterino retardado. *Crecimiento normal y patológico* 1997:389-99.
109. FitzGerald DE, Drumm JE. Non-invasive measurement of human fetal circulation using ultrasound: a new method. *Br Med J* 1977;2(6100):1450-1.
110. Heffner LJ, Sherman CB, Speizer FE, Weiss ST. Clinical and environmental predictors of preterm labor. *Obstet Gynecol* 1993;81(5 ):750-7.
111. Wigle DT, Arbuckle TE, Turner MC, et al. Epidemiologic evidence of relationships between reproductive and child health outcomes and environmental chemical contaminants. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2008;11(5-6):373-517.
112. Boyd NR, Windsor RA, Perkins LL, Lowe JB. Quality of measurement of smoking status by self-report and saliva cotinine among pregnant women. *Matern Child Health J* 1998;2(2):77-83.
113. Lewis SJ, Cherry NM, Mc LNR, Barber PV, Wilde K, Povey AC. Cotinine levels and self-reported smoking status in patients attending a bronchoscopy clinic. *Biomarkers* 2003;8(3-4):218-28.
114. West R, Zatonski W, Przewozniak K, Jarvis MJ. Can we trust national smoking prevalence figures? Discrepancies between biochemically assessed and self-reported smoking rates in three countries. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16(4):820-2.
115. Pastore A. *Ultra-sonografia em ginecologia e obstetrícia*. Primeira ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2003.
116. Hofhuis W, de Jongste JC, Merkus PJ. Adverse health effects of prenatal and postnatal tobacco smoke exposure on children. *Arch Dis Child* 2003;88(12):1086-90.
117. Abdul-Khaliq H, Segerer H, Luck W, Obladen M. Increased cerebral blood flow velocities in newborn infants of smoking mothers. *Eur J Pediatr* 1993;152(3):232-5.
118. Dawes GS, Lewis BV, Milligan JE, Roach MR, Talner NS. Vasomotor responses in the hind limbs of foetal and new-born lambs to asphyxia and aortic chemoreceptor stimulation. *J Physiol* 1968;195(1):55-81.

119. S. C. The epidemiology of smoking during pregnancy: smoking prevalence, maternal characteristics, and pregnancy outcomes. *Nic Tobacc Res* 2004;6:125-40.
120. Ueda Y, Morikawa H, Funakoshi T, et al. [Estimation of passive smoking during pregnancy by cotinine measurement and its effect on fetal growth]. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1989;41(4):454-60.
121. Matsubara F, Kida M, Tamakoshi A, Wakai K, Kawamura T, Ohno Y. Maternal active and passive smoking and fetal growth: A prospective study in Nagoya, Japan. *J Epidemiol* 2000;10(5):335-43.
122. Steyn K, de Wet T, Saloojee Y, Nel H, Yach D. The influence of maternal cigarette smoking, snuff use and passive smoking on pregnancy outcomes: the Birth To Ten Study. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2006;20(2):90-9.
123. Sindberg Eriksen P, Marsal K. Acute effects of maternal smoking on fetal blood flow. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1984;63(5):391-7.
124. Morrow RJ, Ritchie JW, Bull SB. Maternal cigarette smoking: the effects on umbilical and uterine blood flow velocity. *Am J Obstet Gynecol* 1988;159(5):1069-71.
125. Pinto GR, Botelho C. Effect of Cigarette Smoking on Maternal-fetal Blood Flow: Doppler Velocimetry Study. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* 2000;22(10):641-46.

**ANEXOS****ANEXO A - PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS**

Nome:

Idade:

G P A

Idade gestacional:

IMC:

Tabagista: SIM

NÃO

Número de cigarros/dia:

Tempo de tabagismo:

Tempo último cigarro(min):

**Medidas:**

CO exalado:

Nível de cotinina urinária:

**Ecografia:**

Peso fetal:

ILA:

Grau placenta:

	IR
Artéria uterina Direita	
Artéria Uterina Esquerda	
Artéria Umbilical	
Artéria Cerebral Média	

**Seguimento:**

Idade gestacional no parto:

Peso:

## **ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO**

### **“A DOPPLERVELOCIMETRIA COMO MÉTODO DE AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TABAGISMO SOBRE A CIRCULAÇÃO MATERNO-FETAL”**

#### **I- Justificativa e objetivos da pesquisa**

Essa pesquisa tem como objetivo avaliar os efeitos do cigarro na gestação, especificamente sobre a quantidade de sangue que chega até o bebê (feto) através da placenta e seus efeitos sobre o crescimento fetal. Sabe-se que os bebês nascidos de mães que fumam costumam ter um peso menor, maior risco de parto prematuro (nascer antes do tempo), descolamento de placenta entre outras alterações.

Estamos tentando entender como o cigarro causa essas alterações, se existe relação desses achados com o número de cigarros fumados e se isso ocorre realmente por diminuição da quantidade de sangue que vai para o bebê.

#### **II- Procedimentos a serem utilizados**

O meio que vamos usar para realizar este trabalho é principalmente a ecografia, método a qual a maioria das grávidas são submetidas durante a gestação. Na ecografia iremos medir a quantidade de sangue da mãe que está indo para o bebê pela placenta e como está a circulação do feto através do estudo doppler. Será realizado somente um exame, que nos padrões utilizados não oferece riscos ao bebê nem à paciente.

Também será realizado um exame de urina, em que a grávida terá que urinar em um frasco que será posteriormente analisado no laboratório e outro exame em que terá que assoprar num tubo. Todos esses exames serão realizados no mesmo dia, que será combinado previamente com a paciente.

#### **III- Desconfortos ou riscos esperados**

Nenhum dos exames realizados oferece qualquer risco para a mãe nem para o bebê.

#### **IV e V- Benefícios que se pode obter e procedimentos alternativos que possam ser vantajosos**

Se a ecografia mostrar alguma alteração com o bebê poderão ser tomadas as medidas adequadas para evitar danos para ele.

#### **VI- Garantia de resposta a qualquer pergunta**

#### **VII- Liberdade de abandonar a pesquisa sem prejuízo para si**

#### **VIII- Garantia de privacidade**

Ressaltamos que a concordância em participar desse estudo não implica em alterações no pré-natal, e o fato de não querer participar também não mudará nada na maneira que será conduzido o atendimento neste hospital.

Eu, \_\_\_\_\_ fui informado dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada. Recebi informações a respeito dos exames que serão realizados e esclareci as minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão se assim eu desejar. A Dra. Julia de Barros Machado certificou-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais, bem como não trará riscos ao meu bebê e terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa, face a estas informações.

**IX- Compromisso com informação atualizada do estudo****X- Disponibilidade de tratamento médico e indenização em caso de danos****XI- Garantia de que custos adicionais serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa**

Fui informado que no caso de existirem danos à minha saúde ou a do meu bebê, causados diretamente por esses exames que serão realizados na pesquisa, terei o direito a tratamento médico e indenização conforme previsto por lei. Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Caso tiver novas perguntas sobre este estudo, posso chamar a Dra. Julia de Barros Machado no telefone (51) 96662427. O telefone do Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS é (51) 33203345. Para qualquer pergunta sobre os meus direitos como participante deste estudo ou se penso que fui prejudicado pela minha participação, posso entrar em contato com o Dr. José Miguel Chatkin no telefone (51) 33203378. Declaro que recebi cópia do presente Termo de Consentimento.

_____	_____	_____
Assinatura do paciente	Nome	Data

_____	_____	_____
Assinatura do pesquisador	Nome	Data

Este formulário foi lido para \_\_\_\_\_ em  
 \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ pelo \_\_\_\_\_ enquanto eu estava  
 presente.

_____	_____	_____
Assinatura da testemunha	Nome	Data

**ANEXO C - ARTIGO****QUANTITATIVE EFFECTS OF TOBACCO EXPOSURE ON MATERNAL-FETAL CIRCULATION**

Julia B MACHADO, MD, MSc  
Plínio Vicente MEDAGLIA FILHO, MD, MSc  
Guilherme OLIVEIRA PETERSEN  
José Miguel CHATKIN, MD, PhD

Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
(*Hospital Sao Lucas of the Catholic Pontificate University of Rio Grande do Sul*) – Brazil  
Post-Graduate Studies in Medicine and Health Sciences – Medical Clinic  
HSL-PUCRS Pulmonological and Obstetric Services

**Adress update :**  
JULIA DE BARROS MACHADO  
Anita Garibaldi, 1924/603  
90480-200, Porto Alegre, RS, Brasil  
E-mail: [juliamachado@terra.com.br](mailto:juliamachado@terra.com.br)

## QUANTITATIVE EFFECTS OF TOBACCO EXPOSURE ON MATERNAL-FETAL CIRCULATION

*MACHADO JDB; FILHO PVM; PETERSEN, GOP; CHATKIN JM*

### SUMMARY

**OBJECTIVE:** To study the effects of tobacco exposure on maternal-fetal circulation and birth weight.

**STUDY DESIGN:** 34 pregnant smokers and 30 pregnant non-smokers were studied, using a prospective study design. Subjects signed consent forms, filled out a self-applied questionnaire, were subjected to Doppler Velocimetry, urinary cotinine level and carbon monoxide exhaled (COex).

**RESULTS:** An increase in resistance in the uterine arteries ( $P=0.03$ ) and umbilical artery ( $P<0.01$ ) was observed, as well as a decrease in the middle cerebral artery ( $P=0.034$ ), associated with greater concentration of COex and urinary cotinine. A decrease in birth weight was detected ( $P<0.001$ ), relative to the increase in tobacco exposure of the pregnant woman.

**CONCLUSION:** In pregnant woman who are smokers, greater arterial resistance was detected along with lower birth weight in newborns born to smokers, associated with the greater level of tobacco exposure of the pregnant woman.

**KEY WORDS:** Ultrasonography Doppler, tobacco smoking, placenta, cotinine, carbon monoxide.

## QUANTITATIVE EFFECTS OF TOBACCO EXPOSURE ON MATERNAL-FETAL CIRCULATION

*MACHADO JDB; FILHO PVM; PETERSEN, GOP; CHATKIN JM*

### INTRODUCTION

Evidence of the negative effects of tobacco smoking on fetal development is widely documented in existing literature. The toxic effects vary from perinatal complications, such as low birth weight, to changes in adult behavior.<sup>1,2,3,4,5</sup>

Despite the existence of various published studies regarding the effects of tobacco smoking on gestation, especially on the placental flow and on vascular resistance, there still exists some controversy as to which vessels are most affected and if this effect is acute or chronic.<sup>6</sup> Moreover, most studies quantify tobacco smoking in relation to the number of cigarettes smoked by the subjects, data which is not always reliable. Validated biochemical studies suggest that the estimated exposure to tobacco during gestation can be flawed, due to incorrect information provided by the patients.<sup>7,8</sup> Objective quantification by means of biochemical methods of tobacco exposure can provide more certain data regarding such changes.

The biochemical methods most employed in order to validate self-declaration are carbon monoxide exhaled (COex), and salivary, plasmatic and urinary cotinine.<sup>9</sup> Doppler Velocimetry is a method which enhances maternal and fetal hemodynamic study, using the flow estimate in the uterine, umbilical and middle cerebral fetal arteries, through ultrasonography, using the relationship between systolic and diastolic flow velocity.

This study seeks to quantify tobacco smoking in an objective manner using levels of urinary cotinine and COex, evaluating the relationship with resistance indexes of the uterine, umbilical and middle cerebral fetal arteries through Doppler velocimetrical ultrasonographic evaluation and fetal growth, as well as birth weight assessment.

### POPULATION AND METHODS

Using the prospective design study, 30 pregnant smokers and 34 pregnant non-smokers were recruited by the researcher, after having signed a free and clarified consent form, from the Obstetric Services Low Risk Prenatal Care Center at the PUCRS Hospital Sao Lucas in Porto Alegre, Brazil, between the period of September 2008 and September 2009.

In order to be included in the study, women had to have had no prior or gestational concurring complaints, be between 18 and 35 years of age, in the third trimester of gestation (dated in the first trimester), regularly receiving prenatal care and agreed to participate in the study. Only patients who smoked from the periconceptional period, which was defined as one month before the date of the last menstruation were assessed. For the non-smoker group, patients that never smoked were included. Women classified as former smokers were excluded.

Patients that discontinued prenatal care or that presented an ultrasonographic diagnosis of fetal malformations or other pathologies relating to the pregnancy, those that used alcoholic beverages or had been diagnosed with psychiatric pathologies, chronic arterial hypertension or other chronic pathologies that could interfere with fetal growth were also excluded. Patients that stopped smoking during pregnancy or those that started smoking after conception were again excluded from the study.

In the initial interview the objectives of the study were explained when signing the Consent Form. Following that, the data collection card was filled out and the COex measurement was performed. Immediately after, the patient's urine sample would be taken and the ultrasonography was performed in such way that the patient would not be allowed to smoke between the two tests. After the birth, the patient was contacted via telephone to collect the data relating to the newborn.

All patients that took part in the study were subjected to the Doppler velocimetry exam with colored mapping in the uterine arteries, umbilical arteries and fetal medium cerebral arteries, with measurements taken of the resistance indexes. Also measured was the amniotic fluid index, evaluation of the placenta grade, fetal biometry, with calculation of the estimated fetal weight, and placed on a percentile curve for the gestational age. In order to attempt to lessen the evaluation bias of the ultrasonography, due to a large variability of Doppler values and to account for different equipment operators, 3 measurements were taken, and the average result recorded.

The measurement of CO exhaled (COex) was performed using an electrochemical sensor and is expressed in parts per million (ppm)<sup>9</sup>. For evaluation of urinary cotinine, researchers used the test validated by high performance liquid chromatography (HPLC), employing a previously-validated method.<sup>10</sup>

The ultrasonography and the CO exhaled measurement were performed by the same researcher and the cotinine measurement was taken in the PUCRS Toxicology Institute by a blind technician for the group to which each patient formed part of.

Initially, the results were described using an average  $\pm$  DP (symmetrical continuous data), using mean and range (asymmetrical continuous data) and using percentile calculation (categorical data). In comparing two averages, Student's t was used, and for more than two averages, ANOVA was used. Adjustments for potential confused effects were made using covariance analysis (ANCOBA) and multiple linear regression. The level of significance assigned was  $\alpha = 5\%$ . The data were processed with SPSS Version 15.

The patients were divided into 4 groups relative to levels of COex and cotinine, in order to evaluate the progression of the resistance indexes in relation to the progressive increase of the values found.

To compare the resistance indexes and fetal birth weight in relation to the gestational age of each patient, percentiles were used, as the RI values vary throughout the gestational term. For weight, the Hadlock table was used.<sup>11</sup> For the analysis of the values of the resistance index, published standards for the respective percentiles were used.<sup>11</sup>

The project was approved by the PUCRS Research Ethics Committee, under No. 08/04319 on 09/05/2008.

## RESULTS

30 pregnant smokers and 34 pregnant non-smokers were assessed. No significant difference was observed between the two groups in terms of age, amniotic fluid index, number of miscarriages or placenta grade. There was a difference in terms of parity, as the smokers presented a greater number of pregnancies and births than the non-smokers (Table 1).

When the two groups were compared, without stratifying by tobacco exposure, a significant increase was observed in the resistance indexes in the right and left uterine arteries and the umbilical artery. The RI in the middle cerebral artery tended to be lower, however not in a statistically significant way. (Table 2)

Upon studying the smoker group with relation to the values of tobacco exposure measured by COex, an increase was observed in the RI, associated with greater values obtained from this marker, statistically significant in the right and left uterine arteries, and the umbilical artery, associated with the decrease in resistance indexes in the middle cerebral artery.

Significant decrease in the percentile of the fetal birth weight was detected, also related to the increase in COex. (Table 3)

When the group of smokers was analyzed in relation to the increasing values of urinary cotinine, a statistically significant progressive increase was verified, of the resistance indexes of the left uterine artery and the umbilical artery. The same tendency was observed in the right uterine artery, but without statistical significance (Table 4).

The middle cerebral artery also showed a tendency for a decrease in the resistance indexes relative to the increase in concentration of urinary cotinine, significant in the linear regression, although this significance was not maintained upon correcting for the possible confusion factors described above.

A statistically significant decrease was also verified in the fetal birth weight percentile, associated with the increase in the values of urinary cotinine. (Table 4)

## DISCUSSION

This study indicated that the resistance indexes of the placental bed tend to rise with the quantitative increase in tobacco exposure, in that when the RI increases, the amount of blood and consequently the amount of oxygen transported to the fetus decreased. In response, the fetus tends to create a mechanism compensatory to decrease in tissue perfusion, which can be demonstrated by the tendency of the resistance in the middle cerebral artery to decrease.

A decision was made to classify the smoker patients in progressive groups relative to levels of COex and cotinine, seeking to associate the increase of the resistance indexes and the results described here. As cutoff values for COex and cotinine were not well established in existing studies, this study sought to observe at which levels changes would begin.

Upon studying the smokers in stratified groups in terms of increasing values of COex, an increase was observed in the resistance indexes relative to the increase in the levels of COex in the measurements of the uterine and umbilical arteries, and the decrease in the resistance of the middle cerebral artery, all statistically significant, even when corrected for possible confusion factors. The smokers in this study had smoked up to 6 hours before the measurements were taken, which could have made the COex values more reliable.

An increase was also observed in the resistance indexes of the left uterine arteries and umbilical arteries, relative to the increasing values of urinary cotinine, proving to be statistically significant. The right uterine artery also showed a tendency to increase in resistivity, although without statistical significance. Upon analyzing with linear regression, an increase was detected in the association strength, thus confirming this tendency, which was probably weakened by the insufficient sample size. The middle cerebral artery showed a tendency of resistance decrease with the increase of the cotinine intake, though not significant, but also with an increase in association strength in the linear regression.

In terms of birth weight, for urinary cotinine as well as COex, a decrease in weight was observed relative to the increase in tobacco exposure, statistically significant. Smoking during pregnancy is already known to be a factor which can influence or even determine low birth weight. Smoking continues to be the main preventable cause of restricted intrauterine growth and small size for gestational age (PIG).<sup>12</sup>

Statistically significant changes were verified, possibly relating to a strong factor effect in the study, as even with a small number of patients in the stratified groups for COex levels and urinary cotinine, statistical significance was observed between the groups.

The results presented confirm the influence smoking has during pregnancy, through the observation of a pattern of maternal-fetal perfusion with characteristics of chronic hypoxia amongst the smokers. Despite the fact that the values of the indexes studied are within clinical

normality, a situation was found among the smokers similar to the centralization phenomenon, with an increase of the RI in the umbilical artery and a decrease in the middle cerebral artery. Thus it is inferred that the fetus of a smoking mother presents, as a function of the decrease of the placental flow, a predisposition for tissue hypoxia, which, together with other tobacco actions, can explain the findings of the centralization tendency, as was found.

Although the knowledge of these circulatory adjustments and its action mechanism is incomplete, it is likely that when the partial pressure of O<sub>2</sub> decreased and of CO<sub>2</sub> is increased above a certain level, the aortic and carotid chemoreceptors can be activated, regulating the central vasodilatory response in order to guarantee adequate oxygenation to the fetal brain<sup>13</sup>

The patients were selected from the low risk clinic, thus tending to exclude patients with associated ailments. It was observed that no patient had an interval after smoking their last cigarette greater than 6 hours, which could have contributed to the COex findings. The interviewer was not totally unaware of facts, as she was the same person who performed the ultrasonography, for which efforts were made to minimize the effects of the technician operator from the ultrasonography by taking three different measurements and calculating an average. The evaluator for cotinine levels and statistical data was unaware in terms of the various groups.

The data found in this study was compared with the patients' accounts, perhaps influenced by the fact that they knew that they would be subjected to a quantitative evaluation later after the interview, they did not withhold their smoking status. However, it was observed that most of the patients smoked less on the day of the interview than they would normally do (as per the account of the number of cigarettes smoked per day), also probably due to the fact that they knew that they would be subjected to evaluation.

A study was carried out, with patients with similar characteristics, such as age, amniotic fluid index and placenta grade. Still, a correction was performed for age, pregnancies and amniotic fluid index in order to attempt to lessen any possible confusion bias. Women that had any pathology prior to gestation or any gestational pathology or use of medications that could interfere with the maternal-fetal blood flow were excluded.

Prior studies<sup>14,15,16</sup> sought to study the repercussions of smoking in the maternal-fetal flow, but used as quantification of tobacco exposure the number of cigarettes smoked, as indicated by the patients. Existing studies indicate that this data reported by the smoking patients is not always reliable<sup>17</sup>, which could justify the heterogeneity of the results found in prior studies.<sup>17</sup>

Due to the previously published findings, it was decided that biochemical quantitative measurements would be used to evaluate tobacco exposure, and not just information provided by the patients. To this effect, pre-established quantitative measurements, such as CO exhaled and urinary cotinine, were applied.<sup>10,18</sup>

Although this study included pregnant women without any ailment, due to the high prevalence of tobacco use, finding patients with some related obstetric ailment is quite common. It is speculated that in these cases, the effect demonstrated in this study of chronic hypoxia for the fetus can take on much greater proportions, as the increase of hypoxia caused by tobacco use to the fetus's suffering of other ailments, can represent the threshold between normality and centralization.

## CONCLUSION

In this study, using Doppler velocimetry in uterine, umbilical and middle cerebral arteries, changes were detected corresponding to chronic hypoxia relating to possible fetal compensation mechanisms to maintain its homeostasis, as well as a decrease in fetal birth weight, with an increase in relation to the measurements of COex and urinary cotinine.

## TABLES

*Table 1 – Characteristics of the study population*

	Control n = 34	Smokers n = 30	P
Characteristics			
Age	27,6±6,1	27,3±5,2	0,82
Pregnancy	2,0 [1 a 5]	3,0 [3 a 11]	0,04
Parity	1,0 [0 a 4]	1,5 [0 a 7]	0,04
Abortion	0,0 [0 a 3]	0,0 [ 0 a 3]	0,62
AFI	14,0±2,0	13,3±2,8	0,21
Placenta grade	1 (56%) [0 a 2]	1(70%) [0 a 3]	0,31

Data are presented as mean ± SD or median [minimum and maximum]. AFI: amniotic fluid index. Age (years), pregnancies, abortions and parity (number), AFI (cm), Grade Placenta (As classification Granumm)<sup>26</sup>, percent type 1. P: statistical significance.

**Table 2** – Percentile of vascular resistance index among pregnant women, smokers and control

	Control n = 34	Smoker n = 30	P
RI Percentile			
RUA	37,3±20,0	58,0±23,0	0,001
LUA	38,9 ±17,6	56,1 ±19,6	0,001
UA	43,0±19,0	65,0±15,0	0,001
MCA	45,0±15,0	36,3±21,0	0,450

Data are presented as mean±DP. P: statistical significance obtained using Student's t for independent samples.

RUA: right uterine artery, LUA: left uterine artery, UA: umbilical artery, MCA: middle cerebral artery.

**Table 3** : Percentile of vascular resistance index and of birth weight between four groups according to tobacco exposure, measured by carbon monoxide exhaled

	COex 0 ppm n = 21	COex 1 a 4 ppm n = 21	COex 5 a 9 ppm n = 9	COex ≥ 10 ppm n = 13	<i>P</i> <sup>[1]</sup>	<i>P</i> <sup>[2]</sup>
RI Percentile						
RUA	36,2±21,8 [10 a 90]	46,9±20,3 [10 a 75]	44,4±28,9 [10 a 90]	66,5±17,5 [25 a 90]	0,003	<0,001
LUA	39,3±18,7 [25 a 75]	40,5±16,8 [25 a 75]	52,8±19,5 [25 a 75]	66,1±16,7 [50 a 95]	< 0,001	<0,001
UA	44,5±21,3 [10 a 75]	49,1±17,9 [5 a 75]	61,1±13,1 [50 a 75]	71,1±16,2 [50 a 95]	0,001	<0,001
MCA	46,4±14,3 [25 a 75]	42,1±17,1 [5 a 75]	47,2±19,5 [25 a 75]	27,7±22,2 [5 a 75]	0,022	<0,001
Percentile of birth weight	49,05±22,7 [10 a 90]	49,90±25,8 [3 a 90]	41,2±25,3 [3 a 75]	25,1±16,6 [3 a 50]	0,017	<0,001

Data are represented as mean±DP [minimum, maximum]. COex: carbon monoxide exhaled, RI: vascular resistance index, RUA: right uterine artery, LUA: left uterine artery, UA: umbilical artery, MCA: middle cerebral artery. P: statistical significance, [1]: variance analysis - ANOVA - *oneway*, [2]: linear tendency obtained in regression model, [3]: adjusted for age, number of pregnancies and AFI in ANCOVA model.

**Table 4** – Percentile of resistance index and of birth weight between four groups according to tobacco exposure measured by urinary cotinine

	Cotinine 0 ng/mL n = 30	Cotinine < 50 ng/mL n = 10	Cotinine 50 a 500 ng/mL n = 14	Cotinine > 500 ng/mL n = 10	<i>p</i> <sup>[1]</sup>	<i>p</i> <sup>[2]</sup>	<i>p</i> <sup>[3]</sup>
RI Percentile							
RUA	42,8±22,8 [10 a 90]	40,0±25,7 [10 a 90]	55,3±23,5 [10 a 90]	22,9±22,9 [25 a 75]	0,201	0,064	0,267
LUA	41,1±20,8 [25 a 95]	42,5±20,6 [25 a 75]	58,9±15,8 [25 a 75]	52,5±18,4 [25 a 75]	0,033	0,014	0,037
UA	46,8±20,1 [5 a 75]	46,0±21,0 [10 a 75]	63,5±14,6 [50 a 90]	68,5±17,3 [50 a 95]	0,003	<0,001	0,001
MCA	45,3±15,7 [5 a 75]	42,5±16,8 [25 a 75]	36,8±21,8 [5 a 75]	34,5±23,8 [5 a 75]	0,321	0,062	0,14
Percentile of birth weight	45,6 ±21,5 [3 a 90 ]	62,4±24,4 [25 a 90]	36,6 ±24,0 [3 a 90]	27,1±22,8 [3 a 75]	0,006	0,003	0,007

Data are represented as mean±DP [minimum, maximum]. RI: vascular resistance index, RUA: right uterine artery, LUA: left uterine artery, UA: umbilical artery, MCA: middle cerebral artery. P: statistical significance, [1]: variance analysis - ANOVA - *oneway*, [2]: linear tendency obtained in regression model, [3]: adjusted for age, number of pregnancies and AFI in ANCOVA model.

## FIGURES

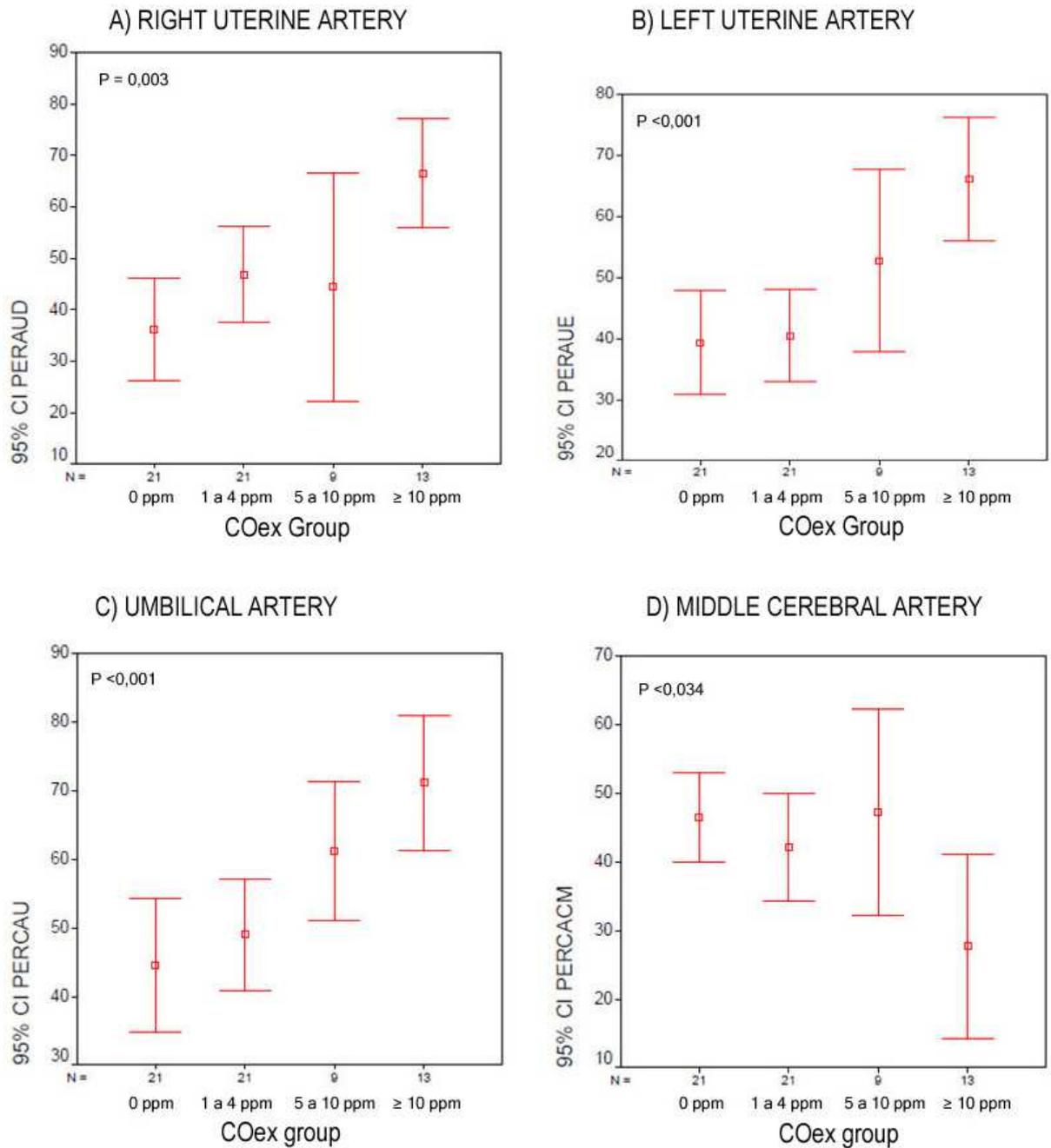


Figure 1: Percentiles of the resistance indexes in relation to the groups with progressive values of COex.

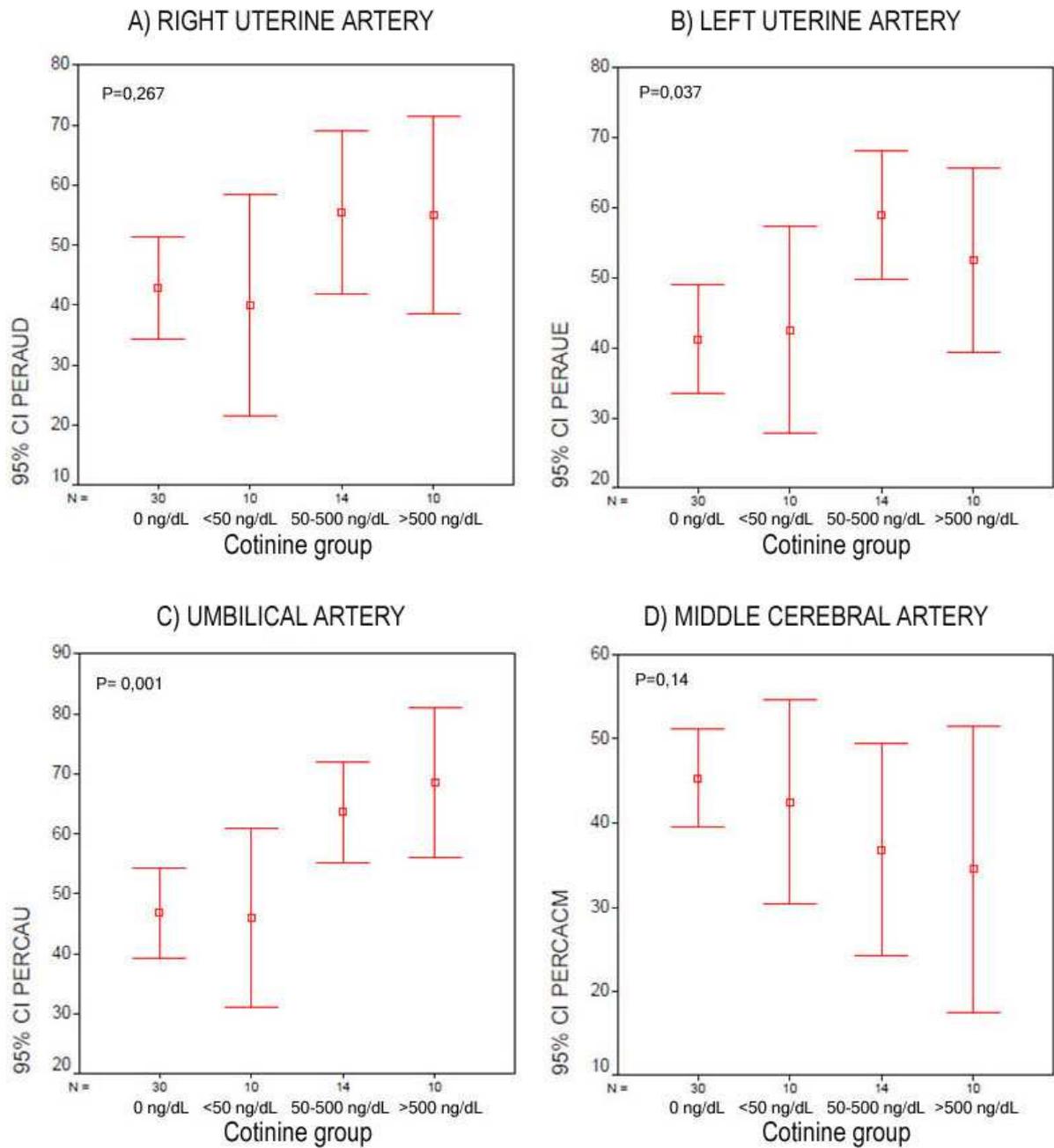


Figure 2: Percentiles of the resistance indexes in relation to the groups with progressive values of urinary cotinine.

## REFERENCES

1. Walsh RA, Lowe JB, Hopkins PJ. Quitting smoking in pregnancy. *Med J Aust* 2001;175(6):320-3.
2. Carvalho JT. Tabagismo, mulher e gravidez. In: Carvalho JT. O tabagismo visto sob vários aspectos, 2000. Cap.13, 267-87.
3. Mello PRB, Pinto GR, Botelho C. Influência do tabagismo na fertilidade, gestação e lactação. *J Pediatr* 2001;77(4):257-64.
4. Orleans CT, Johnson RW, Barker DC, Kaufman NJ, Marx JF. Helping pregnant smokers to quit. *West J Med* 2001;174(4):276-81.
5. Sebrie E, Glantz SA. The tobacco industry in developing countries. *Bmj* 2006;332(7537):313-4.
6. Kimya Y, Cengiz C, Ozan H, Kolsal N. Acute Effects of Maternal Smoking on the Uterine and Umbilical Artery Blood Velocity Waveforms. *J Matern Fetal Investig* 1998;8(2):79-81.
7. Kendrick JS, Zahniser SC, Miller N, et al. Integrating smoking cessation into routine public prenatal care: the Smoking Cessation in Pregnancy project. *Am J Public Health* 1995;85(2):217-22.
8. Windsor RA, Lowe JB, Perkins LL, et al. Health education for pregnant smokers: its behavioral impact and cost benefit. *Am J Public Health* 1993;83(2):201-6.
9. Aranda Regules JM, Mateos Vilchez P, Gonzalez Villalba A, Sanchez F, Luna del Castillo Jde D. [Validity of smoking measurements during pregnancy: specificity, sensitivity and cut-off points]. *Rev Esp Salud Publica* 2008;82(5):535-45.
10. Cattaneo R AA, Sagebin FR, Abreu CM, Petersen GO, Chatkin JM. Validação do método para determinação de cotinina em urina por cromatografia líquida de alta eficiência. *Revista Brasileira de Toxicologia* 2006;19:25-31.

11. Pastore A. Ultra-sonografia em ginecologia e obstetrícia. Primeira ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2003.
12. Aagaard-Tillery KM, Porter TF, Lane RH, Varner MW, Lacoursiere DY. In utero tobacco exposure is associated with modified effects of maternal factors on fetal growth. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198(1):66 e1-6.
13. Dawes GS, Lewis BV, Milligan JE, Roach MR, Talner NS. Vasomotor responses in the hind limbs of foetal and new-born lambs to asphyxia and aortic chemoreceptor stimulation. *J Physiol* 1968;195(1):55-81.
14. Castro LC, Allen R, Ogunyemi D, Roll K, Platt LD. Cigarette smoking during pregnancy: acute effects on uterine flow velocity waveforms. *Obstet Gynecol* 1993;81(4):551-5.
15. Albuquerque CA, Smith KR, Johnson C, Chao R, Harding R. Influence of maternal tobacco smoking during pregnancy on uterine, umbilical and fetal cerebral artery blood flows. *Early Hum Dev* 2004;80(1):31-42.
16. Abdul-Khaliq H, Segerer H, Luck W, Obladen M. Increased cerebral blood flow velocities in newborn infants of smoking mothers. *Eur J Pediatr* 1993;152(3):232-5.
17. Caraballo RS, Giovino GA, Pechacek TF. Self-reported cigarette smoking vs. serum cotinine among U.S. adolescents. *Nicotine Tob Res* 2004;6(1):19-25.
18. Santos UP GS, Abe J, Esteves P, Filho MF, Wakassa T B, Issa J S, Terra-Filho M, Stelmach R, Culkier A. Emprego da determinação de monóxido de carbono no ar exalado para a detecção do consumo de tabaco. *J Pneumol* 2001;27(5):231-6.