

“Sinto-me nascido a cada momento  
Para a eterna novidade do Mundo...”

**Fernando Pessoa**

## **AGRADECIMENTOS**

Considerando este trabalho como resultado de uma caminhada que não começou na Universidade de Coimbra, agradecer pode não ser tarefa fácil, nem justa. Para não correr o risco de cometer injustiças, agradeço de antemão a todos que de alguma forma me ajudaram na minha vida e contribuíram para a construção de quem sou hoje.

E agradeço, particularmente, a algumas pessoas pela contribuição mais directa na construção deste trabalho:

Ao orientador deste trabalho, Professor Doutor José Joaquim de Sousa Barros, pela sua disponibilidade, apoio, inspiração e empenho em transmitir os conhecimentos que contribuíram para a sua realização: a minha iniciação na escrita científica;

A todos os meus professores, colegas, amigos, pelos seus preciosos conselhos e ensinamentos que me enriquecem;

À minha família, meu porto seguro, pelo constante encorajamento, pelo amor e apoio incondicional, pelo exemplo, por serem o que são e por estarem sempre lá.

**Um Enorme Muito Obrigada!**

## ÍNDICE

<b>Introdução</b>	<b>6</b>
<b>Objectivos</b>	<b>8</b>
<b>Da Fisiologia do Parto à Fisiopatologia do Parto Pré-termo</b>	<b>8</b>
Dados Anatomo-patológicos. Corioamniotite	11
Defesas Inatas contra a Infecção Intra-Amniótica	14
<b>Evidência Científica da Relação Infecção – Parto pré-termo</b>	<b>17</b>
Infecção Ascendente	18
Estádios da Infecção Intra-Uterina	19
Vaginose Bacteriana	21
Mecanismos Moleculares	22
<b>Microbiologia</b>	<b>26</b>
<b>Infecção Crónica e Subclínica</b>	<b>27</b>
<b>Dados epidemiológicos clínicos</b>	<b>29</b>
Evidências Histológicas	30
Dados Microbiológicos	32
Dados imunológicos	36
Dados Clínicos	36
Dados da Experimentação animal	37
Ensaio clínicos terapêuticos	40
<b>Diagnóstico</b>	<b>40</b>
Prevenção	45
TERAPIA- Antibióticos	46
Anti-inflamatórios	52
Progesterona	58
<b>Susceptibilidade Genética – Polimorfismos Genéticos</b>	<b>61</b>
<b>Discussão e Conclusão</b>	<b>68</b>
<b>Referências</b>	<b>75</b>

## **RESUMO**

### **Resumo**

Evidências recentes, clínicas, epidemiológicas, histopatológicas, microbiológicas, imunológicas, genéticas e experimentais sustentam uma relação causal entre a Infecção Intra-Uterina e o Parto pré-termo, principalmente aquele ocorrido precocemente, antes das 32 semanas de gestação. É sugerido, assim, que na origem de mais de 40% dos partos pré-termos espontâneos, tidos como idiopáticos, estará uma Infecção crónica, estabelecida precocemente na gravidez, latente e silenciosa até ao despoletar dos fenómenos caracterizadores do trabalho de parto. Essa Infecção terá como origem uma colonização anormal do tracto genito-urinário inferior, com ascensão subsequente de microrganismos pelo canal cervical. Em seguida, dá-se uma colonização temporo-espacialmente progressiva atingindo a coriodescídua, membranas corioamnióticas, líquido amniótico e feto. Essa colonização é a chave para a estimulação do sistema imunitário inato materno e/ou fetal, com a libertação local de citocinas pró-inflamatórias, prostaglandinas e metaloproteinases de matriz que, interagindo entre si e com o recrutamento de células inflamatórias, despoletam, uma contracção uterina frequente e regular, com efeito sobre o colo uterino, apagamento e dilatação cervicais e/ou ruptura de membranas. Uma Resposta inflamatória “exacerbada”, de amplitude crescente, constitui a base da fisiopatologia do processo. Além disso, constitui por si só um factor prognóstico fetal adverso, independente da exposição fetal a uma colonização anormal. Fetos a ela expostos ou que desenvolvem um Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica apresentam maior risco de complicações infecciosas e não infecciosas. Perante esta problemática, urge a investigação de medidas para uma adequada selecção das mulheres realmente em risco (recentemente, a mais investigada, a mensuração de marcadores bioquímicos) e o delinear de medidas terapêuticas eficazes, dirigidos à causa. Como medidas farmacológicas preventivas surgem assim o estudo de diversos fármacos, cujo benefício da sua aplicação clínica ainda permanece por determinar: anti-inflamatórios e antibióticos.

**Palavras-chave:** Infecção Intra-Uterina – Inflamação – Evidências Científicas - Diagnóstico – Terapêutica Preventiva – Susceptibilidade genética.

## **ABSTRACT**

Recent evidence, epidemiological, clinical, histopathological, microbiological, immunological, and genetic experiments, supports a causal relationship between Intrauterine Infection and Preterm birth, especially that occurred early before 32 weeks of gestation. It is suggested therefore that infection established early in pregnancy, chronic, considered as idiopathic, latent and silent, triggers the labor and is responsible for more than 40% of spontaneous preterm birth. This infection will rise as an abnormal colonization of the lower urogenital tract, with subsequent ascent of microorganisms through the cervical canal. Then progressing it reaches the coriodescúda, chorioamniotic membranes, amniotic fluid and fetus. Bacterial colonization is the key stimulating maternal and fetal immune system with the local release of proinflammatory cytokines, prostaglandins and matrix metalloproteinases that, interacting among themselves and with the recruitment of inflammatory cells, trigger often a uterine contraction, with an effect on the cervix, cervical effacement and dilatation and / or rupture of the membranes. This "exacerbated" inflammatory response is the basis of the pathophysiology of the process. Moreover, it is a fact that this response is an independent risk factor for adverse fetal outcome. Fetus exposed to that type of molecules or that develop a Systemic Inflammatory Response are at increased risk for infectious and noninfectious complications. Faced with this problem, urges the investigation to find adequate measures for the selection of women actually at risk (recently, the most investigated, is the measurement of biochemical markers) and delineating effective therapeutic measures directed to the cause. From recent pharmacological studies have been arising several drugs, anti-inflammatory drugs and antibiotics, but their benefit in the clinical application remain to be determined.

**Key-words:** Intra-uterine Infection – Inflammation – Scientific Evidence – Diagnosis – Preventive Therapeutics – Genetic Susceptibility

## **Introdução**

Segundo a *World Health Organization* parto pré-termo é todo o trabalho de parto que ocorre antes de estarem completas as 37 semanas de gestação (ou os 259 dias).

Clinicamente, um trabalho de parto pré-termo espontâneo é diagnosticado na presença dos seguintes critérios: contrações uterinas dolorosas, palpáveis, com uma duração superior a 30 segundos e que ocorrem pelo menos 4 vezes em 20 minutos e evidência de uma alteração na posição, consistência, comprimentos e/ou dilatação do colo uterino (Meloni et al., 2009; Beck et al., 2010).

A nível mundial, ocorre em 5-15% das gestações, dependendo da população considerada, sendo a sua prevalência superior em países em desenvolvimento.

É responsável por 75% da mortalidade perinatal e por mais de 50% dos casos de distúrbios de neurodesenvolvimento corridos na infância. À “prematuridade” estão inerentemente associadas diversas complicações a curto e a longo prazo, como: Hemorragia Intraventricular, Leucomalácia Periventricular, Síndrome de Dificuldade Respiratório do Recém-nascido (ou Síndrome das Membranas Hialinas), Enterocolite Necrotizante, Retinopatia, Displasia Broncopulmonar e Paralisia Cerebral, cujas incidências serão tanto superiores quanto menor a idade gestacional considerada (Holst et al., 2008; Sorokin et al., 2010).

Apesar da melhoria, nos últimos anos, da taxa de sobrevivência destes recém-nascidos, devido aos melhores cuidados neonatais, não têm sido observadas melhorias no que reporta à taxa de complicações a curto e a longo prazo nem à taxa de incidência do parto pré-termo espontâneo a nível mundial, o que significa que ainda estão por definir formas preventivas adequadas, que se traduzam numa diminuição da taxa de parto pré-termo e numa melhoria do prognóstico neonatal e infantil. A sua prevalência não tem sido modificada e tem mesmo mostrado um aumento progressivo nos últimos anos.

O parto pré-termo espontâneo é um síndrome multifactorial. Apesar dos inúmeros factores de risco implicados na sua etiopatogénese, na maioria dos casos (45-50%) não é possível isolar uma causa específica (dizem-se, por isso, idiopáticos) (Beck Set al, 2010). Nos últimos anos, evidências crescentes de natureza Clínica, Epidemiológica, Histopatológica, Microbiológica, Imunológica, Bioquímica, Genética e Experimental suportam o papel causal da Infecção Intra-Uterina em mais de 40% dos partos pré-termos espontâneos tidos como idiopáticos, sendo o seu papel preponderante (em 1/3 dos casos) naqueles ocorridos precocemente, antes das 32 semanas de gestação (Saji et al., 2000). Essa infecção é caracteristicamente crónica, assintomática, precoce e latente, até que sejam postos em marchas os fenómenos biológicos caracterizadores de um trabalho de parto precoce (Sorokin et al., 2010). Ela terá origem numa colonização anormal do tracto genito-urinário inferior (sendo a Vaginose Bacteriana uma manifestação precoce), que posteriormente dará lugar, por via ascendente, à colonização progressiva da interface coriódécidual, membranas fetais, líquido amniótico e feto. Mais do que de uma colonização anormal, o trabalho de parto pré-termo estará na dependência da montagem de uma resposta inflamatória materna e/ou fetal, caracterizada pela síntese e libertação local de inúmeros factores inflamatórios e uterotónicos como: citocinas, prostaglandinas e metaloproteinases de matriz, de cuja interacção resulta: o aumento da contractilidade uterina, apagamento e dilatação cervicais e/ou ruptura prematura de membranas pré-termo. Sabendo que é no grupo de recém-nascidos nascidos antes das 32 semanas de gestação (que constituem 1-2% de todos os partos pré-termo) que se concentra grande parte dos casos de morte ou de complicações orgânicas e que na origem de grande parte deles estará uma infecção não diagnosticada, urge, neste contexto, a necessidade de delinear as adequadas formas diagnósticas e terapêuticas, direccionadas para a causa, que visem diminuir a morbimortalidade destes recém-nascidos (Sorokin et al., 2010). Para além disso, a exposição fetal a um ambiente inflamatório constitui por si só um factor independente

de prognóstico adverso: recém-nascidos expostos a uma infecção intra-amniótica associada a elevados níveis de citocinas pró-inflamatórias apresentam maior risco de morte e de complicações a curto e a longo prazo, quando comparados com recém-nascidos na mesma idade gestacional, de um parto pré-termo de etiologia não infecciosa. A geração de uma Resposta Inflamatória Sistémica Fetal estará, assim, associada a danos multiorgânicos, principalmente cerebrais.

### **Objectivos**

Nesta revisão, teremos como principais objectivos: expor as diversas evidências científicas actualmente existentes a favor de uma relação causal entre a “Infecção Intra-Uterina” e o “Parto Pré-termo Espontâneo”, delinear as principais características dessa infecção e, finalmente, rever os métodos diagnósticos e terapêuticos preventivos propostos nos últimos anos numa tentativa de resolução do problema.

Antes de cumpridos os objectivos essenciais desta revisão, serão delineados brevemente alguns conceitos fulcrais para o entendimento e enquadramento da problemática em estudo, nomeadamente, alguns conceitos da fisiologia do parto e, posteriormente, alguns conceitos anatomo-patológicos referentes ao parto pré-termo.

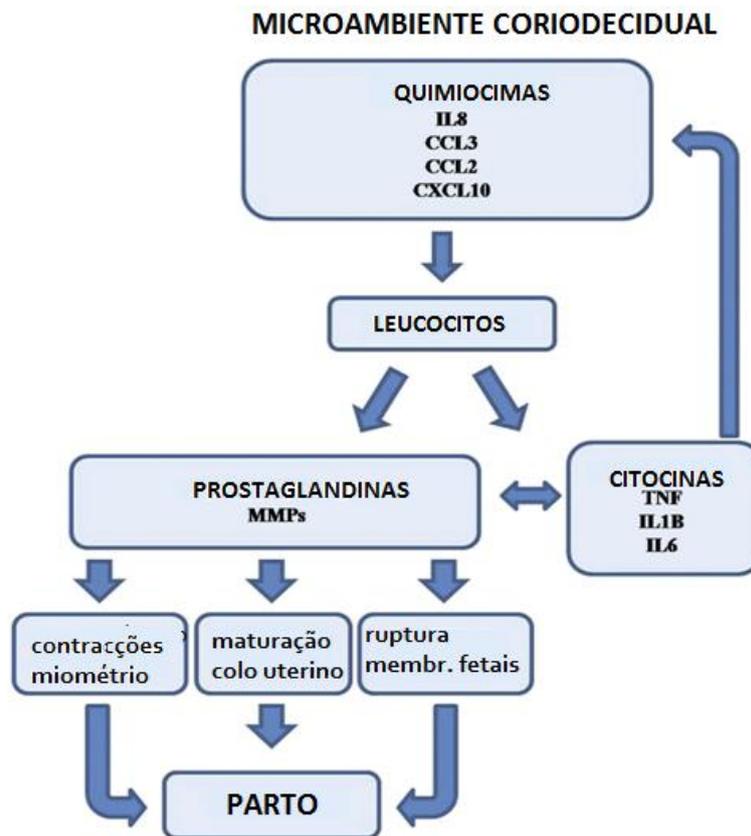
### **Da Fisiologia do Parto à Fisiopatologia do Parto Pré-termo**

O conhecimento do mecanismo fisiológico subjacente ao parto tem constituído, no âmbito da investigação científica, um auxílio na compreensão da complexa etiopatogenia do parto pré-termo. Sabe-se hoje, que ambos os fenómenos são de natureza inflamatória, envolvendo a expressão e acção locais e sistémicas de diversas biomoléculas. Sendo ainda incompleta a nossa compreensão de todos os mecanismos que despoletam o trabalho de parto, dificultada está a plena compreensão da etiopatogenia do parto pré-termo. É aceite actualmente que haja

uma interacção complexa entre factores hormonais, imunitários e nervosos (Orsi et al., 2008; Kamel et al., 2010).

É reconhecido que o mecanismo fisiológico do trabalho de parto envolve a criação de um microambiente inflamatório (Redline e Patterson, 1993). Do recrutamento de células inflamatórias (neutrófilos, monócitos e células T) que infiltram os tecidos (decídua, membranas fetais e colo uterino) resulta a activação do sistema imunitário inato materno, que, ao produzir localmente citocinas pró e anti-inflamatórias (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12 e o factor estimulador de colónias de granulócitos - GM-CSF), estimula subsequentemente a libertação de moléculas uterotónicas (nomeadamente prostaglandinas, PGs - PGE<sub>2</sub> e PGF<sub>2</sub>) e enzimas (metaloproteinases de matriz – MMPs: MMP-1, MMP-2, MMP-3 e MMP-9), responsáveis finais pelas modificações orgânicas fisiológicas caracterizadoras do trabalho de parto - aumento da contractilidade uterina, amadurecimento e dilatação do colo e ruptura das membranas fetais. Esta cascata de eventos encontra-se resumida na **Figura 1**.

Como descreveremos posteriormente, o mesmo tipo de biomoléculas está envolvido na patogenia do parto pré-termo, parecendo este resultar de uma activação precoce, anómala e assíncrona do mesmo processo por um estímulo de índole patológica.



**Figura 1. Modelo proposto do microambiente coriodecidual na interface materno-fetal das membranas fetais durante o parto a termo ou em condições patológicas.** (Adaptado de: Gomez-Lopez et al, 2010).

O facto de este tipo de moléculas ser produzido por diferentes tipos de células e sob a influência de diferentes estímulos, torna difícil a identificação da sua origem em diferentes situações (fisiológicas ou patológicas).

As citocinas, moléculas fulcrais na etiopatogenia do parto pré-termo, intervêm numa variedade de processos biológicos, fisiológicos e patológicos, com acções e interacções complexas cujo entendimento nos auxilia na compreensão da etiopatogenia de inúmeras patologias do foro obstétrico, designadamente, aborto espontâneo, pré-eclâmpsia e parto pré-termo (Orsi et al., 2008 ; Kamel et al., 2010 ; Gomez Lopez et al., 2010 ; Peltier et al., 2010).

Exporei, de seguida, alguns dados que são normalmente obtidos através da análise histopatológica de placentas de partos pré-termo de provável e/ou comprovada etiologia infecciosa.

### **Dados Anatomo-patológicos. Corioamniotite**

O exame da placenta por um patologista experiente pode fornecer informações valiosas que não podem ser determinadas clinicamente. Através do exame histopatológico da placenta a fisiopatologia de uma gravidez adversa pode ser explicada, e isso pode contribuir para a gestão das gestações subsequentes. Sendo o parto pré-termo um síndrome complexo e multifactorial, para o qual, na prática clínica, não é encontrada, na maioria dos casos, uma causa etiológica subjacente, a análise morfológica ulterior, macroscópica e microscópica, da placenta, torna-se de grande valor, delineando possíveis causas e evidenciando determinados fenómenos patológicos que de outra forma nos seriam inacessíveis.

**Aparência Macroscópica:** a placenta derivada de um Parto pré-termo, em que é comprovada uma Infecção intra-amniótica, é tipicamente desprovida do brilho azulado, normalmente presente. As membranas encontram-se obscurecidas por um exsudado inflamatório (produzido caracteristicamente por neutrófilos polimorfonucleares - PMN), não sendo muitas vezes visualizadas as estruturas vasculares. A superfície placentar torna-se mesmo amarelada quando há exsudado abundante, ou quando o processo tenha sido de longa duração. O âmnios é frequentemente áspero e desprovido do brilho que normalmente apresenta. A placenta é frequentemente fétida, podendo o odor sugerir uma etiologia microbiana particular (um patologista experiente e observador poderá, por exemplo, associar o odor fecal à infecção devida a fusobactérias e *Bacteroides* e o odor adocicado ao *Clostridium*, ou a infecções por *Listeria*).

As membranas são tipicamente mais friáveis e a decídua capsular encontra-se frequentemente destacada e com sinais de hemorragia. Esta hemorragia marginal é decorrente do processo de decíduite. Preparações feitas sobre a superfície da placenta podem ser usadas para identificar o exsudado inflamatório, especialmente quando a infecção se deve a *Listeria*. Neste último caso, para além da opacidade da superfície das membranas da placenta, que é ocasionalmente esverdeada, os abscessos intervilosidais típicos podem ser visíveis em cortes transversais da placenta (Fox e Sebire, 2007; Baergen, 2011).

**Aparência Microscópica:** Ao microscópio observa-se infiltração leucocitária das membranas por células polimorfonucleares (PMN), originadas no espaço intervilositário e na superfície vascular fetal. Essa infiltração dos tecidos é considerada um indicador da resposta inflamatória. Eosinófilos são encontrados esporadicamente, nomeadamente em infecções prolongadas, podendo os macrófagos participar ou não nesta resposta inflamatória (Baergen, 2011). Os plasmócitos estão geralmente ausentes, excepto em casos de infecções crónicas. Em partos pré-termo precoces, ocorridos antes das 20 semanas de gestação, as células polimorfonucleares são de origem predominantemente materna (do espaço intervilositário). Foi sugerido por Muller (1956) (Citado por: Fox e Sebire, 2007), que só no 2.º trimestre da gravidez é que o feto terá capacidade de produzir leucócitos que participem na resposta inflamatória.

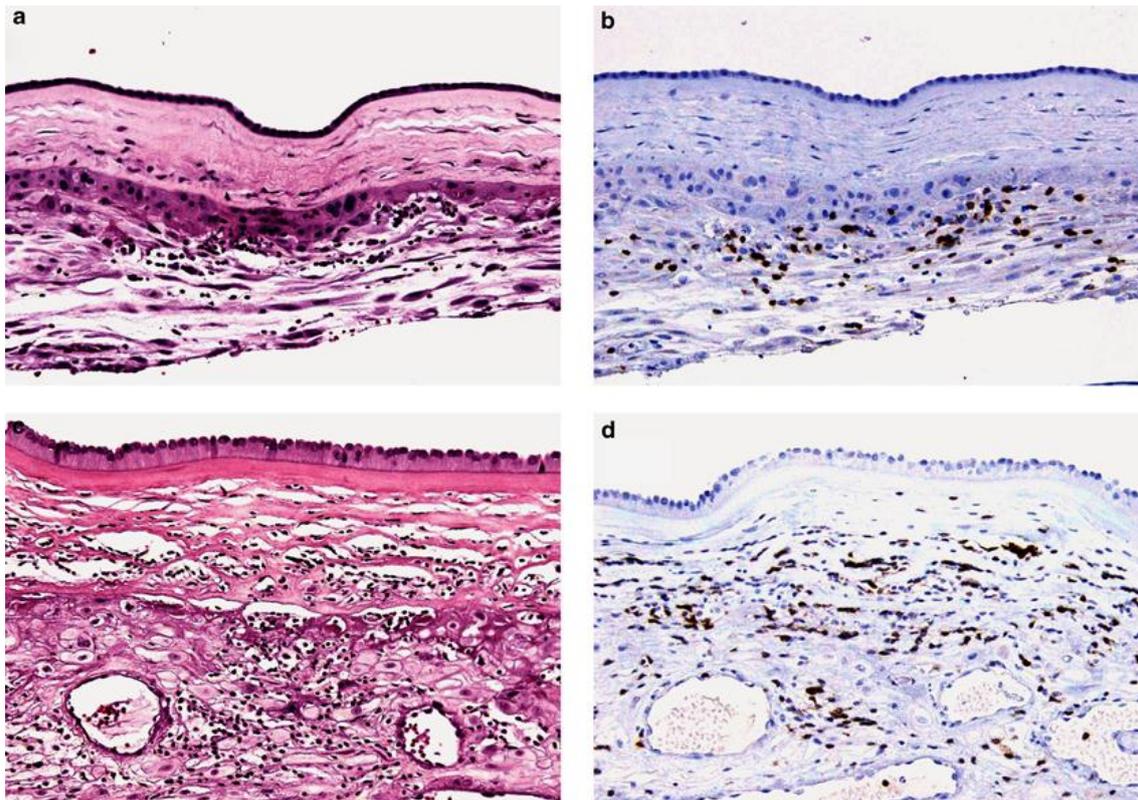
O conceito de Corioamniotite pode ser definido do ponto de vista clínico ou histológico. Histologicamente define-se pela presença de inflamação corioamniótica, que é documentada pela infiltração das membranas fetais por leucócitos polimorfonucleares (PMN), como já foi referido. Embora a inflamação seja uma resposta inespecífica a uma variedade de estímulos, e

seja cientificamente plausível que vários processos patológicos poderão a ela estar subjacentes, de acordo com Russell (1980), é consensualmente aceite desde longa data que a presença de corioamniotite histológica é quase sempre, senão sempre, um indicador de infecção.

Sob o ponto de vista clínico é definida como um síndrome caracterizado pela presença de febre, com uma temperatura corporal superior a 37,5°C, associada a três ou mais dos seguintes sinais ou sintomas: hipertonia uterina, dor abdominal, “corrimento vaginal”, leucocitose (superior a 15.000 cl/mm<sup>3</sup>) ou taquicardia fetal ou materna (superior a 100/160 bpm, respectivamente).

Não parece existir todavia correlação estrita obrigatória entre uma forma e outra. As mulheres com corioamniotite histológica podem não ter quaisquer manifestações clínicas. Por outro lado, apenas uma proporção de mulheres com corioamniotite clínica aguda mostram evidências de corioamniotite histológica aguda (Gugino et al., 1998; Smulian et al., 1999; citados por, Chang, 2009; Kim et al., 2010).

Embora ambas sejam muito mais frequentes no contexto de um Parto pré-termo, a situação, que maior relevo ganha no estudo aqui delineado, é aquela que associa o achado histológico de corioamniotite com o Parto pré-termo de etiologia infecciosa clinicamente silente (Blanc et al., 1953; Blanc et al., 1954 ; Benirschke et al., 1959 ; Driscoll et al., 1965; Mandsley, 1966; Driscoll et al., 1973; citados por Menon et al., 2010). Será esta a variante sobre a qual incidirá esta revisão.



**Figura 2. Características histológicas de corioamniotite crônica. (a, b). Estadio 1** - infiltração de linfócitos limitada à camada trofoblástica coriônica **(a)**. Imunocoloração dos CD3 mostrando que a maioria destes são células T **(b)**. **(c, d). Estadio 2** - a inflamação caracteriza-se pela infiltração de linfócitos na camada de tecido conjuntivo corioamniótica, em grande parte células T CD3 + **(d)** (Adaptado de: Kim et al., 2009). .

O Parto pré-termo é, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), todo o parto que ocorra antes de completas as 37 semanas, ou os 259 dias de gestação (Pararas et al., 2006).

### **Defesas Inatas contra a Infecção Intra-Amniótica**

Para além das membranas, que funcionam como uma barreira mecânica, bioquímica e imunologicamente activa, o líquido amniótico também tem um papel significativo na acção defensiva contra a Infecção, como parte do sistema imune inato. O sistema imunológico inato é a primeira linha de defesa contra patógenos e inclui as barreiras anatómicas e fisiológicas, as enzimas e peptídeos antimicrobianos, assim como a fagocitose e a libertação de mediadores inflamatórios por neutrófilos e macrófagos. Muitas das substâncias que compõem o sistema imune inato foram identificadas no líquido amniótico e tem sido demonstrado que estas têm importantes propriedades antimicrobianas. São elas as defensinas [HNP1-3], lactoferrina,

lisozima, proteína bactericida de permeabilidade-crescente, calprotectina, inibidor da protease secretora de leucócitos, psoriasina [S100A7], e uma catelicidina [LL-37]. Estes potentes antimicrobianos têm amplo espectro de actividade contra bactérias, fungos, protozoários e vírus. Talvez as mais importantes delas sejam as defensinas [HNP1-3], que parecem têm origem na pele e no pulmão fetais e que são encontradas em concentrações significativas no líquido amniótico de mulheres sem evidência de infecção (Underwood et al., 2005).

A infecção intra-amniótica foi consistentemente associada com as concentrações de lactoferrina (LF) no líquido amniótico. O parto foi associado a um aumento significativo na concentração de lactoferrina no compartimento fetal (sangue do cordão umbilical) e a uma redução no compartimento amniótico. Pacora et al. (2000) propuseram que a lactoferrina é parte do repertório de mecanismos de defesa do hospedeiro contra a infecção intra-amniótica. A lactoferrina (LF) é uma glicoproteína com dois sítios de ligação para o ião férrico. É encontrada no leite humano e aparece no líquido amniótico às 20 semanas de gestação, aumentando a sua concentração com a idade gestacional. Elevados níveis de lactoferrina têm sido associados ao parto pré-termo de etiologia infecciosa. Nestas gestações complicadas por Infecção intra-amniótica, a lactoferrina é provavelmente secretada por neutrófilos e células amnióticas no fluido amniótico. A LF tem tanto actividade bacteriostática como actividade bactericida. A digestão enzimática da lactoferrina em pH ácido liberta um potente peptídeo catiónico com efeitos antimicrobianos contra vírus, protozoários e fungos (Underwood et al., 2005).

A actividade "celular" do sistema imune inato no líquido amniótico como um mecanismo protector para o feto perante uma Infecção potencial está menos bem definida. A actividade de variadas células inflamatórias a esse nível parece desempenhar um papel importante na defesa contra a Infecção. O aumento da concentração de fagócitos mononucleares (como

monócitos, macrófagos e histiócitos), normalmente presentes, e/ou o aumento de neutrófilos (normalmente não identificados em fetos saudáveis) são alguns dos componentes da resposta inflamatória fetal melhor estudados. A presença de neutrófilos no líquido amniótico é hoje considerada como um possível marcador de Infecção, sendo estas células maioritariamente originados a nível coriónico como resposta a uma colonização microbiana anormal. É ainda interessante que o mecónio amniótico mostre actividade quimiotática para neutrófilos, desconhecendo-se a origem deste fenómeno. Dois factores reguladores do crescimento hematopoiético, o factor estimulante de colónias de granulócitos (G-CSF) e o factor estimulante de colónias de macrófagos (M-CSF), são encontrados no líquido amniótico de fetos saudáveis a termo e pré-termo e parecem desempenhar também um papel defensivo contra a Infecção. Uma concentração elevada de G-CSF poderá ser encontrada a diversos níveis aquando de uma Infecção intra-uterina: no soro materno, no sangue do cordão umbilical obtido por cordocentese, no líquido amniótico obtido por amniocentese, na urina e/ou nas secreções broncoalveolares de recém-nascidos infectados. Se o G-CSF e o M-CSF desempenham realmente um papel de defesa no líquido amniótico ou são apenas meramente excretados durante a resposta imune, ainda não é conhecido (Underwood et al., 2005).

Foram ainda sugeridos como factores protectores do feto contra uma potencial lesão vários componentes não-imunes do líquido amniótico. Por exemplo, o líquido amniótico pode proteger o intestino fetal dos efeitos do factor activador de plaquetas (PAF), uma molécula pró-inflamatória e pró-angiogénica. O PAF é um potente vasoconstritor e tem sido fortemente implicado na fisiopatologia da Enterocolite Necrotizante em recém-nascidos pré-termo. O nível de PAF no líquido amniótico é baixo ao longo da gestação normal, mas aquando do início do trabalho de parto sofre um aumento de cerca de oito vezes. Tem ainda sido sugerida uma associação entre o seu aumento e a presença de Infecção intra-uterina, sendo que os seus níveis são superiores em Ameaças de parto pré-termo refractárias à tocólise (nas quais a

infecção é uma forte suspeita). Enzimas envolvidas no metabolismo do PAF, “acetil-hidrolases” e “acetil-transferases” apresentam actividade identificável no líquido amniótico, embora a sua função exacta ainda não seja clara. Outras moléculas têm sido sugeridas como factores protectores contra a Infecção no líquido amniótico. Recentemente foi sugerido que as poliaminas aí encontradas poderão desempenhar um papel não só nutritivo como antimicrobiano (Underwood et al., 2005).

### **Evidência Científica da Relação Infecção – Parto pré-termo**

A hipótese que será explorada - para a qual as evidências científicas são favoráveis e que aqui serão pormenorizadas - é a seguinte: na base de grande parte dos partos pré-termo espontâneos (com ou sem membranas intactas), tidos como idiopáticos, em particular aqueles ocorridos antes das 32 semanas, estará uma infecção não reconhecida clinicamente e cujas únicas expressões serão um trabalho de parto precoce e uma histologia placentar subsequente anormal. Esta infecção radicar-se-á na colonização anormal do tracto genito-urinário inferior, com posterior ascensão microbiana para a cavidade uterina (que ocorrerá precocemente na gravidez). Tal colonização subsequente anormal da interface coriódécidual, normalmente estéril, despoletará uma resposta inflamatória sistémica materna e/ou fetal, ambas independentemente contributivas e causais para o parto pré-termo e para as suas consequências. Explorar as evidências que sustentam esta hipótese remeter-nos-á para a sua fisiopatologia, microbiologia, diagnóstico e prevenção. Focar-nos-emos, assim, no parto pré-termo espontâneo (com ou sem membranas intactas) cuja etiologia é uma infecção ascendente, precoce e subclínica.

Em primeiro plano, pormenorizaremos a fisiopatologia do parto pré-termo associado à colonização anormal do tracto genito-urinário inferior, evidenciando os mecanismos moleculares até hoje conhecidos, os seus estádios e a sua microbiologia, com referenciação

para cada um das evidências que o sustentam. Posteriormente, delinearemos, as evidências que suportam, de uma forma geral, a relação causal “Infecção – Parto pré-termo”, não o fazendo de forma inversa para melhor encadeamento e compreensão da informação exposta.

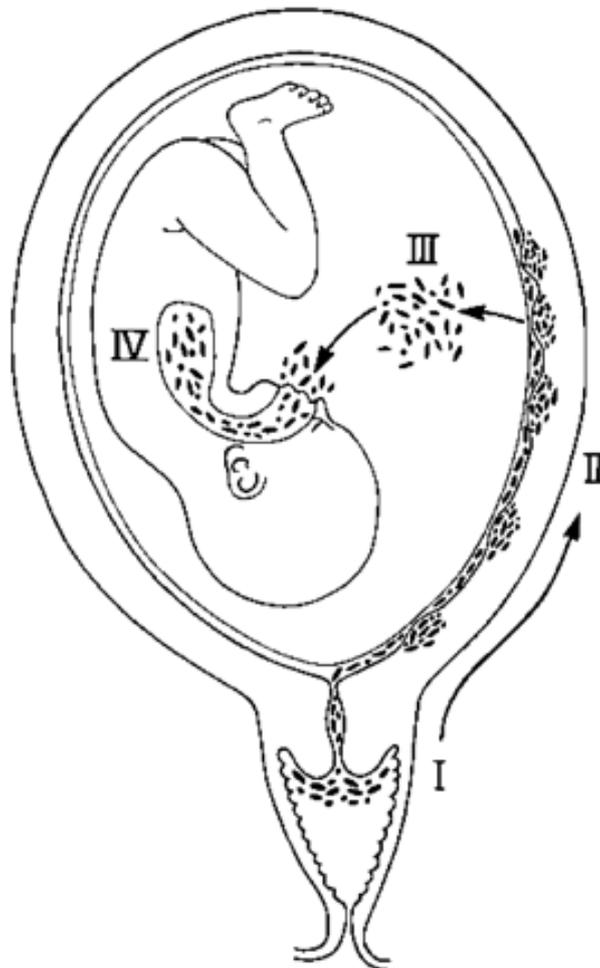
### **Infecção Ascendente**

Os microrganismos podem ter acesso à cavidade amniótica por diferentes vias: **ascendente**, a partir do colo uterino e da vagina; **hematogéna**, ou transplacentar, no decorrer de infecções maternas sistémicas; **retrógrada**, a partir da cavidade peritoneal, via trompas de Falópio; ou **acidental**, por contaminação através de manobras invasivas, como a amniocentese ou a cordocentese. Embora esteja determinada a relação entre variadas infecções sistémicas maternas (como pneumonia, pielonefrite, malária e febre tifóide) e o parto pré-termo, o risco a elas atribuível é muito baixo nos países desenvolvidos, devido à baixa incidência destas condições e ao seu tratamento precoce e eficaz. O risco atribuível às vias retrógrada e acidental é negligenciável.

A via ascendente é hoje considerada a principal via de infecção intra-uterina, particularmente quando esta está implicada na etiopatogénese do parto pré-termo. As evidências que o comprovam são várias: em gestações gemelares, bicoriónicas e biamnióticas, a evidência histológica de corioamniotite é mais frequente no saco de apresentação, não estando documentada a sua presença exclusiva no segundo saco. Visto que o saco de apresentação está justaposto ao canal cervical, este facto apoia a via ascendente como via de colonização intra-uterina. Esta evidência está em concordância com aquela obtida em estudos microbiológicos do líquido amniótico de gestações gemelares: quando a infecção é comprovada, o saco de apresentação está sempre envolvido. A corioamniotite histológica é mais comum e mais grave no local de ruptura das membranas, comparativamente a outros locais nomeadamente o cordão umbilical e o prato subcoriónico. Adicionalmente, em praticamente todos os casos de

pneumonia congénita (em nados mortos e recém-nascidos), encontra-se comprovada a corioamniotite histológica simultânea e, finalmente, os microrganismos isolados de infecções neonatais congénitas são similares aos encontrados no tracto genito-urinário inferior materno. (Blanc, 1964; Romero et al., 1989; citados por Menon et al. 2010).

### Estádios da Infecção Intra-Uterina



**Figura 3. Estádios de Infecção Intra-Uterina**

LEGENDA: I- Colonização genito-urinária anormal (vaginose bacteriana como primeira manifestação); II- uma vez na cavidade uterina os microrganismos residem na decidua; III- a infecção poderá progredir para os vasos fetais, coriovasculite, ou progredir para o amnion, amniotite, ou para infecção da cavidade intra-amniótica; IV- uma vez na cavidade amniótica as bactérias poderão infectar o feto (Adaptado de: Romero et al., 2002)

Tem aumentado a evidência de que a infecção intra-uterina, tida como factor etiológico da maioria dos partos pré-termo precoces, é a ascendente, polimicrobiana, crónica, subclínica e progressiva. Progressiva por apresentar uma evolução em fases ou estádios, correspondentes a

diferentes graus de extensão tecidual da colonização microbiana. Numa fase inicial ou Estádio 1, haveria alteração da flora vaginal ou colonização genito-urinária por microrganismos específicos (a Vaginose Bacteriana representa uma manifestação precoce e relevante deste estágio). Subsequentemente, e por via ascendente, os microrganismos atingiriam a interface coriodesidual ou decídua, estimulando o sistema imune inato materno a elaborar uma resposta inflamatória local (deciduíte) (Estádio 2). Por contiguidade poderia haver a colonização das membranas fetais e amplificação associada da resposta inflamatória materna (corioamniotite). Posteriormente, os microrganismos poderiam atravessar as membranas fetais (permeabilizadas pelo processo inflamatório) e atingir o líquido amniótico, mesmo na ausência de ruptura de membranas (Estádio 3). Num último estágio poderia haver finalmente acesso bacteriano ao feto, por aspiração do líquido amniótico, ou por dispersão dos microrganismos, por inoculação directa, através dos olhos, ou dos ouvidos – Estádio 4. Este último estágio levaria a uma resposta inflamatória fetal sistémica, com repercussões gestacionais e no próprio prognóstico fetal, como evidenciaremos posteriormente. Em 30% das infecções intra-amnióticas haverá dispersão da infecção pela circulação fetal, com bacteriemia.

Estando a progressividade da Infecção intra-uterina (no tempo e no espaço) na dependência das características microbianas e imunológicas maternas, a colonização localizada no espaço “extra-amniótico” (coriodesidual e corioamniótico) é muito mais frequente que aquela do espaço “intra-amniótico”, tal como foi evidenciado em estudos microbiológicos a partir de líquido amniótico por amniocentese e a partir de amostras obtidas de tecidos placentares nas mesmas mulheres, demonstrando que a invasão “extra-amniótica” é duas vezes mais frequente (20% vs 9%). Sabe-se hoje que, mais do que a colonização microbiana *per se*, são as respostas inflamatórias materna, e/ou fetal, elaboradas neste contexto que, sinergicamente ou

de forma independente, serão responsáveis pelo desencadear do trabalho de parto pré-termo (Golbenderg et al., 2000; Romero et al., 2001; Romero et al., 2002; Gonçalves et al., 2002; Edwards, 2005).

### **Vaginose Bacteriana**

A Vaginose Bacteriana (correspondente ao Estádio 1 da Infecção Intra-Uterina) diz respeito à substituição da normal flora vaginal, dominada por espécies de Lactobacilos, por uma variedade de microrganismos como: *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Bacteroides* spp., *Peptostreptococcus* sp., *Mobiluncus* sp., *Porphyromonas* sp. e *Gardnerella vaginalis*, cuja concentração nestas condições é 1.000 vezes superior em comparação com a flora normal. Este sobre-crescimento de microrganismos anaeróbios é facilitado por a uma subida do pH das secreções vaginais, com diminuição da produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pelos lactobacilos. A razão “anaeróbio:aeróbio” está, assim, significativamente aumentada. A sua prevalência durante a gravidez é de cerca de 20%. Esta condição é na maioria das vezes assintomática e a sua etiologia permanece por determinar. Conhecem-se alguns factores de risco como: terapêutica antibiótica, alterações endocrinológicas, factores que aumentam a alcalinidade vaginal como duche, hemorragia ou relação sexual. Esta tem sido a entidade patológica mais extensivamente implicada na etiopatogenia do parto pré-termo, nos últimos anos, concluindo-se que, quanto mais precoce a sua instalação, na gravidez, maior o risco de parto pré-termo subsequente.

O diagnóstico é feito pela coloração de Gram das secreções vaginais.

Os estudos clínicos randomizados, destinados a determinar o potencial valor da antibioterapia efectuada nesta situação, obtiveram resultados contraditórios. Vários estudos concluem que o

tratamento antibiótico em mulheres assintomáticas, no 2.º trimestre da gravidez, com história de parto pré-termo prévio, diminui consideravelmente o risco de parto pré-termo subsequente, embora alguns outros contradigam. É assim sugerido, pela maioria dos autores, que há vantagem em rastrear as mulheres no 2.º trimestre da gravidez, que tenham história de parto pré-termo prévio, tratando aquelas com diagnóstico de Vaginose Bacteriana confirmado. O tratamento mais sugerido é aquele efectuado com Metronidazol (activo contra anaeróbios) durante 7-14 dias. Paralelamente, os estudos realizados em mulheres assintomáticas no 2.º trimestre da gravidez sem história de parto pré-termo prévio e, por isso, consideradas de baixo risco, não obtiveram, de forma homogénea, qualquer demonstração de benefício do tratamento antibiótico, quer na incidência de parto pré-termo espontâneo, quer no prognóstico neonatal. Assim, em mulheres assintomáticas e de baixo risco não estaria indicado o rastreio e o tratamento sistemático mas, dada a heterogeneidade dos estudos não permitir tirar conclusões definitivas, serão provavelmente necessários mais estudos num futuro próximo (Andrews et al., 2000; Balu et al., 2003; Barros et al., 2010).

### **Mecanismos Moleculares**

Mais do que de uma colonização anormal da cavidade uterina, o parto pré-termo de etiologia infecciosa parece depender de um complexo processo inflamatório, com intervenção de respostas materna e fetal, em resposta a essa invasão. As características desse processo inflamatório (amplitude, precocidade e duração) estarão na dependência directa das características imunitárias maternas e fetais (influenciadas pelo património genético) e de características microbianas (virulência, grau de inoculação e imunogenicidade). É hoje bem conhecido o papel de numerosas moléculas inflamatórias e enzimas na etiopatogenia deste processo, assim como na causalidade de inúmeras morbidades neonatais e infantis.

O atingimento, por via ascendente, da interface coriodecidual, por bactérias de origem cervico-vaginal, é responsável por uma activação precoce e anormal do sistema imunitário inato materno, com expressão e libertação, a nível decidual e corioamniótico, de inúmeras citocinas pró-inflamatórias (como IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ). Essa activação parece estar dependente da interacção entre microrganismos (ou produtos bacterianos) e receptores específicos, deciduais e coriônicos, do tipo “receptores reconhedores de padrão – PRR”. Estes são receptores que reconhecem determinadas estruturas moleculares “padrão”, presentes na maioria dos microrganismos. O principal subtipo envolvido no parto pré-termo de etiologia infecciosa são os receptores do tipo “Toll” – TLR. Da interacção microrganismo-TLR resulta a actividade do factor nuclear Kappa B, factor chave na activação da transcrição nuclear de genes codificadores de citocinas, prostaglandinas e factores de crescimento.

A resposta inicialmente gerada, aliada à presença de microrganismos estranhos nessa localização, é responsável pelo recrutamento de células inflamatórias (polimorfonucleares), com subsequente amplificação da cascata inflamatória e libertação tecidual, local, de prostaglandinas, resultantes do metabolismo de ácido araquidónico e, subsequentemente, responsáveis pela expressão e libertação de proteases (metaloproteinases de matriz). Essas três classes de moléculas, citocinas, prostaglandinas e metaloproteinases de matriz, parecem ser fulcrais na patogenia do parto pré-termo de etiologia infecciosa, sendo responsáveis por: excitabilidade do miométrio, com geração de contracções intensas e regulares, amadurecimento e dilatação cervicais e ruptura de membranas, como evidenciado na **Figura 4 e 5**. O aumento do grau de inoculado na interface coriodecidual, ou a passagem microbiana através das membranas para o espaço corioamniótico, são eventos associados a uma amplificação da resposta inflamatória materna. À maior quantidade de inoculado corresponde, paralelamente, maior facilidade de transgressão das membranas, cuja estrutura se encontra

vulnerabilizada pelo processo inflamatório. Atingido o espaço intra-amniótico e, mais frequentemente, após colonização fetal, é gerada uma Resposta Inflamatória Sistêmica Fetal, caracterizada pela elevação sérica fetal de IL-6 ([IL-6]  $\geq$  11 pg/ml) e de outras citocinas pró-inflamatórias e pela activação monocítica e neutrofílica. Esta resposta fetal constitui um factor contributivo, independente, para a amplificação da resposta inflamatória global e, subsequentemente, para os fenómenos caracterizadores do parto (contrações, apagamento cervical e ruptura de membranas). A presença deste tipo de resposta parece estar associada a uma maior incidência de parto pré-termo e além disso, é hoje encarada como um factor causal na etiopatogenia de inúmeras afecções neonatais e infantis - fetos expostos a uma infecção intra-uterina e subsequentemente a um ambiente inflamatório, apresentam maior incidência e gravidade de *Sepsis* neonatal, Leucomalacia Periventricular, Hemorragia Intra-ventricular, Enterocolite Necrotizante, Síndrome de Dificuldade Respiratória do Recém-nascido e Paralisia Cerebral e mesmo maior taxa mortalidade perinatal, sendo este um factor independente da idade gestacional para o prognóstico neonatal. Esta resposta inflamatória sistêmica, cujo correspondente histológico é a presença de “funisite”, poderá ocorrer mesmo na ausência de uma resposta materna, cuja correspondente histológica é a presença de “corioamniotite” (Saji et al., 2000; Boggess et al., 2005 ; Myerson et al., 2006 ; Pararas et al., 2006; Kouchý et al, 2009; yang et al., 2009; Lee et al., 2011).

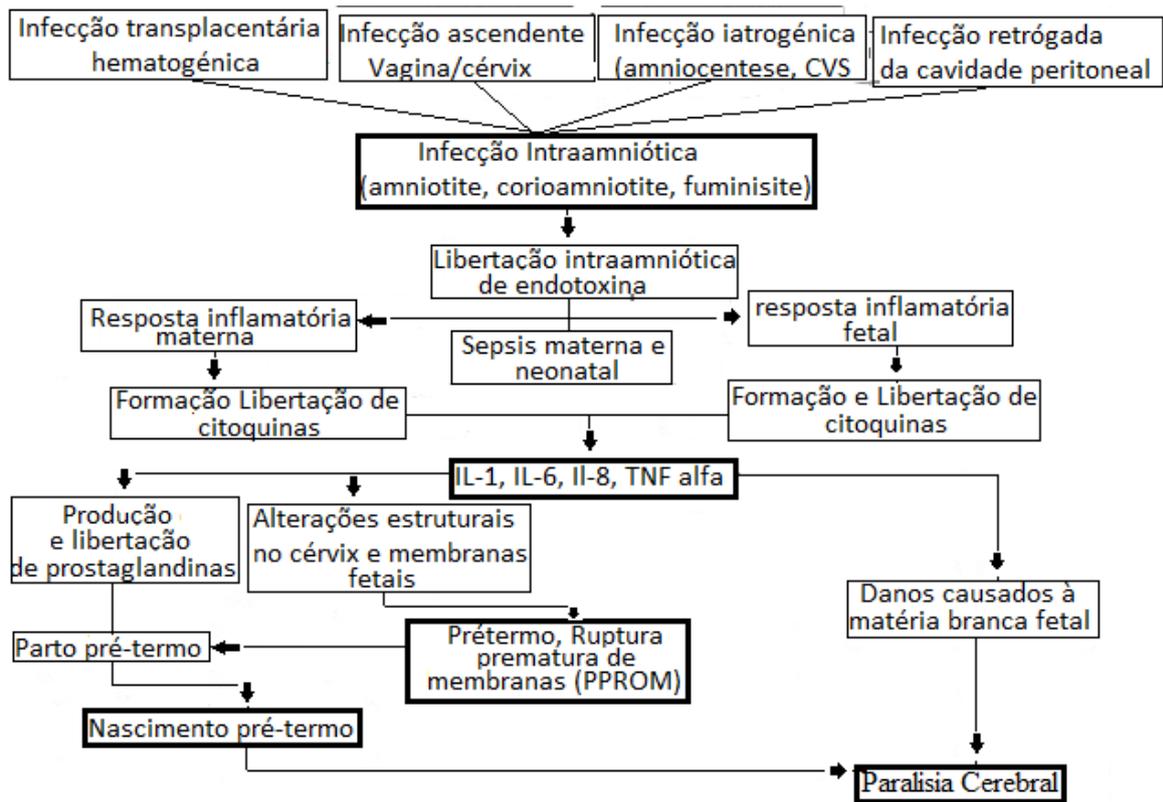


Figura 4. Patogénese da infecção intra-amniótica (Adaptado de: Fahey, 2008)

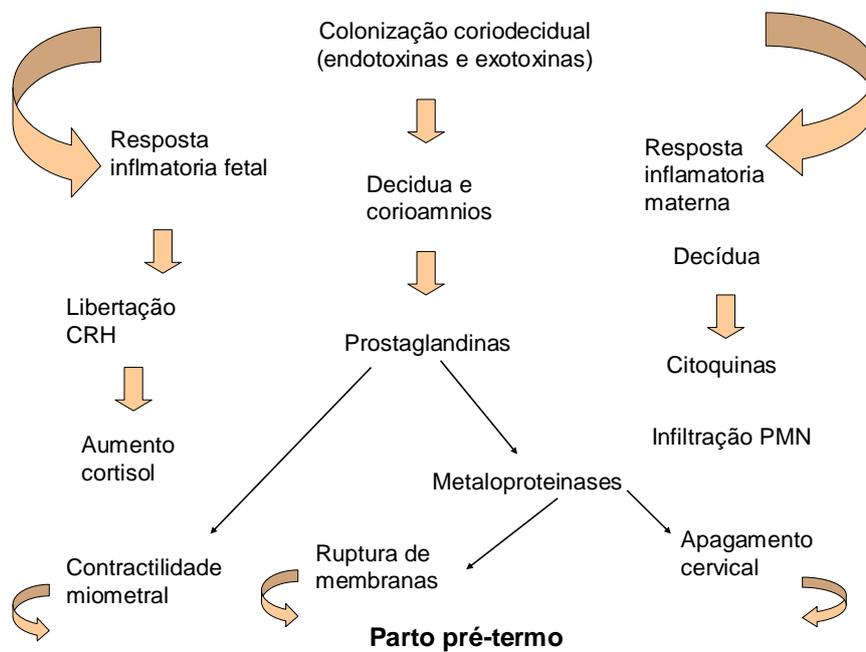


Figura 5. Mecanismos Moleculares e vias de sinalização implicados no parto pré-termo decorrente de colonização microbiana corio-decidual. (Adaptado de: Goldenberg et al., 2003).

## Microbiologia

A Infecção intra-uterina, responsável pela maioria dos partos pré-termo precoces, é de natureza polimicrobiana, sendo os principais microrganismos envolvidos os indicados na **QUADRO 1**. Estes dados são decorrentes de estudos microbiológicos em amostras de líquido amniótico e tecido placentar em partos pré-termo, e cujo valor está hoje bem determinado (Hillier et al., 1988; Jalava et al., 1996; Goldenberg et al., 2000; Romero et al., 2002; Gonçalves et al., 2002).

### QUADRO 1. Microrganismos envolvidos na Infecção Intra-Uterina

<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Mycoplasma hominis</i>
<i>Bacterioides</i> spp.
<i>Fusobacterium</i> spp.
<i>Gardenerella vaginalis</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Peptostreptococcus</i> spp.
<i>Staphylococcus aureus</i> ,
<i>Streptococcus viridans</i>
<i>Lactobacillus</i> spp.
<i>Escherichia coli</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>Peptococcus</i> spp
Raros:
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Campylobacter</i> spp
<i>Clostridium</i> spp

Em pacientes com invasão microbiana demonstrada, 51% tem mais do que um microrganismo isolado e 71% apresenta uma carga bacteriana superior a  $10^5$  colónias/ml. A maioria dos microrganismos potencialmente envolvidos são microrganismos considerados de baixa virulência e que estão presentes comumente na flora vaginal da mulher grávida (Romero et al., 2003).

### **Infecção Crónica e Subclínica**

Apesar da Infecção intra-uterina ser tradicionalmente considerada uma complicação aguda da gravidez, evidências crescentes sugerem que esta seja uma condição crónica, particularmente quando considerada como sendo uma condição etiológica do parto pré-termo.

A sua natureza crónica foi sugerida por dados derivados de estudos microbiológicos e moleculares realizados em líquido amniótico, colhido por amniocentese em mulheres assintomáticas no 2º trimestre da gravidez (amniocentese com intuito primário de cariotipagem e exclusão de cromossomopatias). Vários investigadores verificaram neste contexto que, ao comprovar-se, por cultura microbiológica, uma invasão intra-amniótica no 2º trimestre (16-21 semanas), a prevalência de parto pré-termo subsequente era elevada (70-80%) quando comparada com a prevalência de parto pré-termo na ausência de infecção comprovada precedente. O parto pré-termo ocorreria, assim, semanas após a amniocentese (em média 10-12 semanas depois). Tais factos sugerem que a colonização intra-uterina estaria presente precocemente na gravidez, despoletando uma resposta inflamatória precoce e de amplitude crescente e que seria clinicamente silenciosa até ao desencadeamento do trabalho de parto pré-termo, semanas depois.

Outra corrente defende que a colonização intra-uterina exista já antes da concepção. Korn (1995) reportou que as mulheres em idade fértil, com Vaginose Bacteriana, apresentam uma taxa de colonização microbiana endometrial 10 vezes superior àquela de mulheres sem Vaginose Bacteriana. As mulheres que evidenciam essa colonização endometrial apresentam, também, mais frequentemente, endometrite crónica. As mesmas conclusões foram dadas por Andrews (2000). Estes e outros autores sugeriram que a presença de endometrite crónica permaneceria assintomática até ao despoletar de um parto pré-termo, em cuja etiopatogenia

estaria uma resposta inflamatória iniciada após adesão da decídua às membranas fetais, por volta da 20ª semana de gestação. Essa reacção inflamatória seria, durante 8 a 10 semanas, silenciosa, até ao despoletar do parto pré-termo, por volta das 28-30 semanas de gestação (Cassell et al. 1983 - citado por, Andrews et al., 2000; Gonçalves, 2002; Goldenberg, 2003).

Uma potencial relação entre Infecção Intra-uterina Ascendente e o Parto Pré-termo Espontâneo (com ou sem membranas intactas) já é reconhecida há décadas. A primeira evidência microbiológica foi evidenciada por Bott e Ledger (1989) que comprovaram a existência de microrganismos no líquido amniótico em 7 de 10 mulheres com Ameaça de Parto Pré-termo (APP). Postularam estes autores a hipótese de que bactérias presentes no tracto genito-urinário inferior possam ascender ao tracto genital superior e atravessar as membranas, contaminando o líquido amniótico e desencadeando o parto (Bott et al., 1989 citado por, Goldenberg et al, 2002).

Nas últimas três décadas tem sido crescente a evidência científica que apoia o papel da Infecção intra-uterina na etiopatogenia de 25-40% dos partos pré-termo, sendo a sua prevalência inversamente proporcional à idade gestacional considerada. A infecção intra-uterina é hoje considerada como sendo o factor etiológico principal nos partos pré-termo ocorridos antes das 32 semanas (Romero et al., 2002; Gonçalves et al., 2002).

Em prole da associação “Infecção intra-uterina e parto pré-termo” existem hoje evidências clínicas, laboratoriais, microbiológicas, histológicas e epidemiológicas, cujo entendimento tem permitido dar um passo em frente no desenvolvimento de novas ferramentas diagnósticas e terapêuticas de forma a diminuir a morbimortalidade associada a esta problemática. Contributos específicos a favor desta associação foram dados por estudos histopatológicos de

placentas, derivadas de partos de termo e pré-termo; estudos microbiológicos de líquido amniótico, colhido por amniocentese em mulheres com ameaça de parto pré-termo (APP) e em mulheres assintomáticas no 2º trimestre da gravidez; estudos experimentais em modelos animais com “infecção-intra-uterina” induzida; e estudos epidemiológicos (Goldenberg et al., 2002; Grigsby et al., 2010).

### **Dados epidemiológicos clínicos**

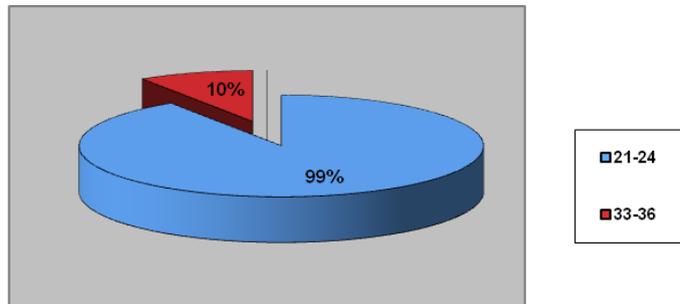
A prevalência do Parto pré-termo difere consoante as populações e comunidades estudadas, verificando-se uma enorme discrepância entre diferentes estratos socioeconómicos e entre diversas etnias. Relevante é o facto de este ser duas vezes mais frequente em mulheres de raça negra (comparativamente a mulheres caucasianas ou hispânicas). Aquelas mulheres apresentam prevalências duas vezes superior de Vaginose Bacteriana, Corioamniotite clínica ou histológica e de Endometrite crónica pós-parto. Tais factos revelaram desde há muito uma possível associação entre Infecção e Parto pré-termo. Outro dado epidemiológico relevante é dado pela existência de um risco acrescido de Parto pré-termo quando houve um parto pré-termo prévio, sendo que na gravidez actual este tenderá a ocorrer de forma semelhante e na mesma idade gestacional que o anterior. Além disso, esse risco será tanto maior quanto maior o número de partos pré-termo prévios, o que nos reporta para um factor etiológico permanente e não modificado, como um património genético susceptível ou a presença de uma infecção crónica, presente antes da concepção e entre gestações. Por último, mulheres com colonização anormal do tracto genito-urinário ou infecções genitais específicas (nomeadamente Bacteriúria Assintomática ou Vaginose Bacteriana) apresentam um risco aumentado, cientificamente comprovado, de parto pré-termo subsequente; embora a relevância de vários agentes patogénicos específicos ainda esteja por comprovar, assim como o papel da antibioterapia em todas estas circunstâncias (Goldenberg et al., 2000). Estes dados serão por nós posteriormente explorados.

### **Evidências Histológicas**

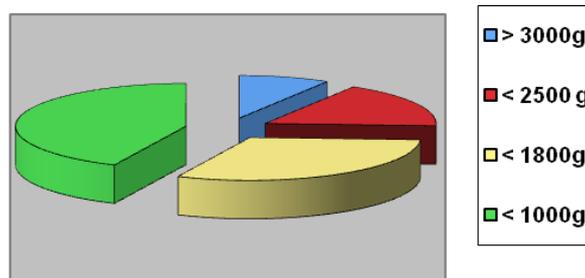
Desde longa data que é sugerida uma forte correlação entre corioamniotite histológica e o parto pré-termo. A prevalência da primeira aumenta exponencialmente com a diminuição da idade gestacional considerada (ou, o peso à nascença) (Sweet & Gibbs, 2001; Goldenberg et al, 2003), como é evidenciado no **Gráfico 1 e 2**. Além disso, a evidência histológica de inflamação placentar está frequentemente associada à comprovação microbiológica de infecção (cultura positiva) em amostras de tecido placentar, sendo que em 70% das placentas com evidência histológica de corioamniotite há invasão microbiana comprovada. A prevalência de culturas positivas em amostras teciduais placentares após dequitação é duas vezes superior àquela de culturas positivas obtidas de líquido amniótico, denotando uma prevalência superior da colonização “extra-amniótica” comparativamente à “intra-amniótica”. Será, assim, mais frequente a colonização das interfaces coriodescidual ou corioamniótica que a colonização directa do líquido amniótico. No entanto, pressupõe-se que a primeira será em muitos casos suficiente para gerar uma resposta inflamatória de amplitude tal que desencadeará um parto pré-termo. Estes dados poderão ainda explicar o facto de muitas mulheres em Ameaça de Parto Pré-termo, sem evidência de infecção no líquido amniótico, serem refractárias ao tratamento tocolítico.

No **Gráfico 3** é evidenciada, ainda, a discrepância entre a prevalência de corioamniotite histológica em partos pré-termo espontâneos e partos pré-termo por indicação médica, documentada por um estudo clínico recente. No primeiro grupo a incidência de corioamniotite histológica variou entre 68-88%, enquanto que no segundo não foi reportado qualquer caso. Além disso, foi evidenciada uma forte correlação entre corioamniotite histológica e evidência de colonização bacteriana (Jones et al., 2009).

**Gráfico 1. Variação da prevalência de corioamniotite histológica em função da idade gestacional**  
(Adaptado de: Goldenberg et al, 2003).

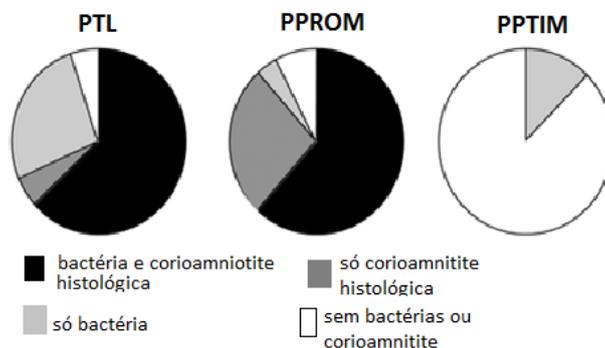


**Gráfico 2. Variação da incidência de corioamniotite histológica em função do peso do feto**  
(Adaptado de: Sweet & Gibbs, 2001).



**Legenda:** 3000g = 10%; < 2500 g = 20%; < 1800g = 36%; < 1000g = 50

**Gráfico 3.** Prevalência de corioamniotite histológica em partos pré-termo espontâneos - com membranas intactas (PTL), ou partos pré-termo com ruptura prolongada de membranas (PPROM) - e partos pré-termo por indicação médica (PPTIM) (Adaptado de Jones et al., 2009).



GRUPO	Corioamniotite histológica	Corioamniotite não histológica
PPROM n=26	23 (88)	3 (12)
PTL n=19	13 (68)	6 (32)
Parto pré-termo por indicação	0 (100)	8 (100)

### Dados Microbiológicos

Ao longo das últimas três décadas tem sido comprovada, em vários estudos, a correlação entre “positividade de culturas obtidas de líquido amniótico” em mulheres em Ameaça de Parto Pré-termo e membranas intactas e o subsequente desenvolvimento de trabalho de parto pré-termo (Aquino et al., 1984; Pankuch et al., 1984 ; Chellam et al., 1985 ; Hillier et al., 1988 ; Romero et al., 1992 ; Hillier et al., 1993; Cassell et al. 1993 – citados por, Gibbs et al., 2001; DiGiوليو et al., 2008).

Com o intuito de estimar a prevalência de colonização microbiana do líquido amniótico em diversas circunstâncias clínicas relacionadas com o parto pré-termo, Romero et al. (2002) realizaram uma revisão de estudos clínicos aleatórios, englobando 2.963 mulheres. Estes autores reportaram uma prevalência de colonização microbiana de 12,8% em mulheres com Ameaça de Parto Pré-termo e membranas intactas e de 32,4% em mulheres com ruptura

prematura de membranas pré-termo. Com o intuito de determinar a relevância dos valores obtidos compararam esses dados com a prevalência obtida em mulheres com Ameaça de Parto Pré-termo e gestações gemelares, com Ruptura Prematura de Membranas, mulheres em trabalho de parto espontâneo de termo e membranas intactas e finalmente com mulheres com “incompetência cervical” comprovada no 2º trimestre da gravidez. Foram reportadas, nestes últimos grupos, prevalências de invasão microbiana de 11,9%, 34%, 18% e 51,1%, respectivamente. Estes resultados serão discutidos posteriormente.

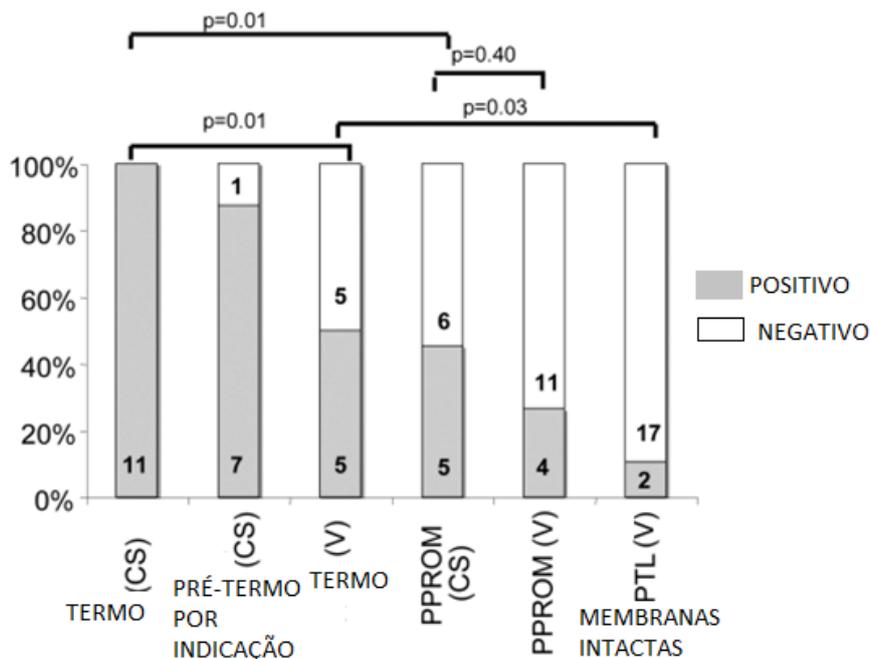
Romero et al. (2002) demonstraram ainda que a maioria (87,5%) das mulheres que se apresentam com Ameaça de Parto Pré-termo e cultura microbiológica positiva não apresentam quaisquer sinais ou sintomas de Infecção mas, em contrapartida, apresentam maior risco de corioamniotite clínica (37,5 vs 9%), refratariedade ao tratamento tocolítico (85.3% vs 16.3%) e risco de ruptura espontânea de membranas (40% vs 3,8%), comparativamente a mulheres em Ameaça de Parto Pré-termo sem evidência microbiológica de Infecção (Romero et al., 2002; Gonçalves et al., 2002).

A prevalência de cultura microbiológica positiva em mulheres em Ameaça de Parto Pré-termo varia nos vários estudos entre 3-26%, sendo a sua prevalência inversamente proporcional à idade gestacional considerada. Quanto menor a idade gestacional, maior a probabilidade de evidência microbiológica de infecção.

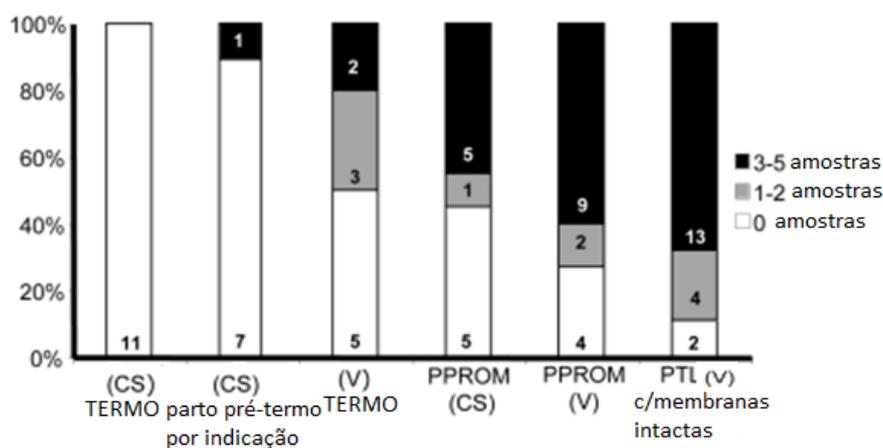
É hoje conhecido que a maior parte dos estudos que reportam uma prevalência baixa de colonização intra-amniótica não são focados só em partos pré-termo precoces, incluindo um intervalo alargado de idades gestacionais e muitas mulheres com idade gestacional superior a 32 semanas. Além disso, muitos desses estudos não tiveram como objectivo a detecção dos

microrganismos mais frequentemente implicados, não tendo feito culturas para micoplasmas genitais (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*) ou anaeróbios. Além disso, há que ter em conta que as culturas obtidas através de amniocentese poderão resultar numa sobrevalorização da prevalência de Infecção intra-uterina, visto que, em muitos casos, haverá uma colonização limitada ao espaço “extra-amniótico”, que não é detectada por amniocentese (só haverá culturas amnióticas positivas em 50% dos casos em que a cultura em membranas pós-dequitação é positiva). Assim, a taxa real de Infecção intra-uterina em mulheres em Ameaça de Parto Pré-termo é actualmente subvalorizada pelos meios de diagnóstico existentes (Goldenberg et al., 2003).

Jones et al. (2009) realizaram um estudo clínico aleatório na tentativa de definir a prevalência de colonização bacteriana, detectada por PCR, em amostras de tecido placentar colhidas após dequitação, em diferentes situações clínicas: partos de termo (via vaginal ou por cesariana), partos pré-termo por indicação médica (por cesariana), partos pré-termo com membranas intactas (via vaginal) e ruptura prematura de membranas pré-termo (via vaginal e por cesariana). Esta autora verificou que a prevalência de colonização bacteriana comprovada é significativamente superior em partos pré-termo espontâneos (com ou sem membranas intactas), de 90% e 70%, respectivamente, comparativamente a partos de termo (0-1%) (**Gráfico 4**). Além disso, evidenciou que não só era mais frequente a colonização em partos pré-termo espontâneos, como nestes eram ainda positivas 3 ou mais amostras, comparativamente a partos de termo, com positividade em 2 ou menos amostras, o que sugere que a extensão da colonização é superior no primeiro caso, como evidenciado (**Gráfico 5**).



**Gráfico 4. Prevalência da colonização microbiana em amostras de placenta (% e número de positivos e negativos) e membranas fetais colhidas após partos pré-termo - com membranas intactas (PTL), ou partos pré-termo com ruptura prolongada de membranas (PPROM) - e de termo, envolvendo cesariana (CS) ou parto espontâneo (V). (Adaptado de Jones et al., 2009).**



**Gráfico 5. Disseminação microbiana em placentas e membranas fetais em partos pré-termo (% e número de amostras positivas = 3-5; 1-2; e 0) - com membranas intactas (PTL), ou partos pré-termo com ruptura prolongada de membranas (PPROM) - e de termo, envolvendo cesariana (CS) ou parto espontâneo (V). (Adaptado de Jones et al., 2009).**

### **Dados imunológicos**

Os níveis elevados de diversas citocinas pró-inflamatórias no líquido amniótico, obtido por amniocentese no 2º trimestre (15-18 semanas) da gravidez, estão fortemente correlacionados com o desenvolvimento subsequente de parto pré-termo, várias semanas após a amniocentese. Além disso, parece existir uma correlação entre estes níveis e a subsequente evidência histológica de Corioamniotite. Pensa-se hoje que uma inflamação crónica, clinicamente silenciosa, precocemente estabelecida na gravidez, e progressiva, culminará num trabalho de parto precoce. Com base nestes dados, acredita-se hoje que existirão marcadores bioquímicos de Infecção que poderão substituir, num futuro próximo, a cultura microbiológica no diagnóstico de uma Infecção intra-uterina silenciosa e de longa duração (Goldenberg et al., 2000; Andrews et al., 2000). Este aspecto será posteriormente desenvolvido.

### **Dados Clínicos**

O facto de mulheres assintomáticas no 2º trimestre da gravidez, com colonização anormal do tracto genito-urinário, ou infecção genital por microrganismos específicos, apresentarem um risco aumentado, teórico ou cientificamente comprovado, de Parto pré-termo subsequente; assim como mulheres com Ameaça de Parto Pré-termo e cultura microbiológica positiva no líquido amniótico desenvolverem na sua grande maioria (80-90%) Parto pré-termo subsequente, é relevante. Além disso, a prevalência de Infecção clinicamente relevante após o parto, quer materna quer neonatal, é superior após partos pré-termo comparativamente a partos de termo. No primeiro grupo são superiores as incidências de Febre materna, Endometrite, Corioamniotite clínica e Infecção neonatal como *sepsis*. Por fim, como já foi atrás referido, é hoje reconhecido que fetos expostos a uma colonização bacteriana anormal desenvolvem uma Resposta Inflamatória Sistémica que contribuirá não só para o desencadeamento precoce do parto assim como para inúmeras afecções orgânicas que serão responsáveis por importantes morbidades neonatais e infantis. Recém-nascidos expostos a

este ambiente hostil infeccioso e inflamatório apresentam um risco superior de desenvolver Leucomalácia Periventricular, Paralisia Cerebral, Síndrome de Dificuldade Respiratória Neonatal, Displasia Broncopulmonar e Enterocolite Necrotizante, sendo esse risco tanto maior quanto maior a amplitude da resposta inflamatória fetal gerada, como previamente exposto.

Outra evidência clínica, já há muito definida e que não deverá ser menosprezada, é a existência de uma relação comprovada entre Parto pré-termo e determinadas situações infecciosas sistêmicas maternas (nomeadamente pneumonia, pielonefrite, malária, febre tifóide, entre outras). Nestas circunstâncias e na ausência de tratamento, a incidência de parto pré-termo varia entre 15 e 80%. Sendo actualmente baixa a incidência destas situações clínicas na grávida pela existência de terapêutica antibiótica adequada e possibilidade da sua instituição precoce, o risco de parto pré-termo atribuível a estas situações é hoje negligenciável nos países desenvolvidos (Gibbs, 2001; Romero et al., 2001; Wu et al., 2009).

### **Dados de Experimentação animal**

As várias experiências laboratoriais em animais são consensuais em demonstrar uma associação entre a inoculação endocervical, ou intra-amniótica, de produtos bacterianos (endotoxinas), ou bactérias elas mesmas, e o subsequente desencadear de trabalho de parto pré-termo, confirmando a plausibilidade biológica da associação em estudo. Além disso, estas experiências demonstraram a existência de um gradiente “dose-resposta” - a uma maior quantidade de inoculado bacteriano corresponde maior amplitude de resposta inflamatória (evidenciada por aumento de citocinas pró-inflamatórias e outras biomoléculas, como as prostaglandinas, no líquido amniótico), maior precocidade e maior exuberância do trabalho de parto pré-termo (Dombroski et al., 1990; Romero et al., 1994; Gravett et al., 1996; Romero et al., 2001- citados por, Jones e tal., 2009).

Neste âmbito, Grigsby et al. (2010) desenvolveram um estudo experimental de caso-controlo em macacos “Rhesus”. Usando dois tipos de inoculação - intra-utrino, por histeroscopia, e coriodescidual, por cateterismo do segmento uterino inferior - documentaram as diversas alterações, em ambas as situações, no que respeita: aos níveis de citocinas pró-inflamatórias e prostaglandinas no líquido amniótico, consoante a dose inoculada; positividade ou negatividade da cultura no líquido amniótico; grau de resposta contráctil uterina; alterações cervicais correspondentes; e presença ou ausência de corioamniotite histológica. Estes autores evidenciaram que, após inoculação coriodescidual a baixas doses, era obtida negatividade da cultura no líquido amniótico - embora com elevação de certos marcadores bioquímicos (como diversas citocinas pró-inflamatórias e prostaglandinas, cujas concentrações eram dose-dependentes) e aumento da contractilidade uterina (também dose dependente mas sem o desencadeamento de parto pré-termo). Doses elevadas de inoculado coriodescidual resultaram numa situação idêntica à inoculação intra-uterina directa a baixas doses; positividade da cultura do líquido amniótico; resposta inflamatória de maior amplitude (níveis superiores de citocinas pró-inflamatórias e prostaglandinas no líquido amniótico); e subsequente maior responsividade uterina (contrações de maior intensidade e frequência) com alterações cervicais consequentes e parto pré-termo. No que concerne ao exame histológico placentar, nas situações citadas, a evidência de corioamniotite histológica foi positiva em ambas, sendo que unicamente na segunda foi comprovada infecção fetal (por cultura de secreções traqueobrônquicas). Estes autores, na tentativa de extrapolar estes resultados para a espécie humana, sugerem vários estádios de infecção, ou de inflamação, que supõem uma gradual quebra dos mecanismos defensivos (imunitários sistémicos e locais) com a inoculação gradual do espaço coriodescidual. Assim, o estádio de infecção coriodescidual pode ser “auto-limitado”, levando a uma resposta inflamatória de baixa amplitude, insuficiente para induzir o parto pré-

termo ou, alternativamente, ela poderá ser progressiva, na dependência de factores infecciosos e maternos: carga de inoculação bacteriana; factores de virulência; e capacidade/características imunitárias do organismo materno.

Grigsby et al. (2010) concluíram que existe uma resposta inflamatória crónica silenciosa e de baixa intensidade, associada a uma inoculação “ligeira”, até que esta progrida e despolete uma resposta inflamatória adicional capaz de induzir os eventos caracterizadores do parto. Alternativamente, esse estado inflamatório de baixo grau e de longa duração poderá manifestar-se clinicamente por apagamento e dilatação cervicais ou como ruptura prematura de membranas pré-termo, pelo facto da invasão coriodecidual, mesmo que de baixa intensidade, despertar a libertação de citocinas, prostaglandinas e metalproteinases de matriz pelos tecidos adjacentes, que, ao terem uma acção sinérgica, promovem a infiltração leucocitária e a remodelação do tecido conjuntivo nesses locais. Além disso, fica patente o papel potencial do feto na amplificação da resposta inflamatória - ao atingir-se a colonização das membranas e do líquido amniótico há uma resposta inflamatória de intensidade muito superior. De maior relevância ainda é a conclusão de que será muito mais frequente a detecção de elevação de marcadores bioquímicos inflamatórios no líquido amniótico, sem evidência de sua colonização, do que o achado de uma cultura positiva no mesmo. O que leva estes autores a colocar a questão: *“Poderá a inflamação estéril do líquido amniótico ser um marcador de colonização coriodecidual?”*. Em boa verdade, ainda não existe uma resposta para tal.

## **Ensaio clínico terapêutico**

Por último, é relevante a evidência de benefício da antibioterapia na prevenção do Parto pré-termo, em algumas situações clínicas específicas a ele associadas, nomeadamente na Bacteriúria Assintomática e na Ruptura Prematura de Membranas Pré-termo. O papel da antibioterapia neste contexto será por nós pormenorizado posteriormente (Romero et al., 2002; Gonçalves et al., 2002).

## **Diagnóstico**

### **Marcadores Bioquímicos para o Diagnóstico do Parto pré-termo de etiologia infecciosa**

A técnica de diagnóstico “padrão” de Infecção é a cultura microbiológica, obtida a partir de amostras de líquidos orgânicos ou de tecidos. No diagnóstico de Infecção intra-uterina a cultura poderá ser realizada a partir de uma amostra de líquido amniótico ou tecido placentar, colhida no primeiro caso por amniocentese durante a gravidez ou, no último caso, após dequitação. A amniocentese, apesar de permitir um diagnóstico pré-natal, tem riscos não negligenciáveis (como aborto espontâneo), apesar de raros (1/100 colheitas). A amostra colhida a partir do espaço corioamniótico, após dequitação, tem a desvantagem de só permitir um diagnóstico pós-natal. Apesar dessa grande limitação, tem sido uma ferramenta de grande auxílio no melhor entendimento da etiopatogenia do Parto pré-termo e tem sido de enorme relevância para sustentar o papel desempenhado pela Infecção nesta problemática.

É, assim, urgente definir novas ferramentas de diagnóstico para o Parto pré-termo, particularmente para aquele em que se suspeita uma etiologia infecciosa, potencialmente presente numa grande percentagem de casos tidos como idiopáticos. Dada a baixa sensibilidade dos métodos de cultura tradicionais para a detecção de inúmeros microrganismos, o uso de técnicas moleculares é promissor. O diagnóstico por PCR (“Polymerase Chain Reaction”) é altamente sensível e capaz de detectar microrganismos não

detectáveis por outras técnicas. Com ela emerge a possibilidade de detectar quase todos, se não todos, os microrganismos tidos como potencialmente presentes na cavidade amniótica, ou mesmo a detecção de outros até hoje negligenciados. Além disso, neste tipo de teste de diagnóstico são necessárias quantidades diminutas de microrganismos para a sua detecção, sendo esta possível mesmo após tratamento antibiótico. Foi já reportado por alguns estudos que a taxa de detecção microbiana com uso de Proteína-C-Reactiva (PCR) em líquido amniótico, colhido em mulheres assintomáticas no 2.º trimestre da gravidez, é muito superior àquela obtida por técnicas de cultura padrão. Assim, comparativamente, as técnicas tradicionais subestimarão a verdadeira prevalência de Infecção intra-amniótica (Jalava et al., 1996; Romero et al., 2001; Gravett et al., 2004; Romero et al., 2008).

Tal como descrevemos anteriormente, o Parto pré-termo causado pela colonização intra-uterina ascendente, tem como base patológica um processo inflamatório, com intervenção das respostas imunitárias materna e fetal face à exposição bacteriana. Tais respostas inflamatórias são caracterizadas pelo aumento de expressão de citocinas pró-inflamatórias, prostaglandinas e metaloproteinases de matriz, a diversos níveis: nas membranas fetais, decídua, miométrio e colo uterino. Partindo do pressuposto que uma grande percentagem de partos pré-termo espontâneos, particularmente os precoces, resulta de um processo inflamatório de longa duração, não traduzido clinicamente e cuja origem radica numa colonização anormal cervico-vaginal, é intuitivo propor como potencial método de diagnóstico o doseamento de diversas destas moléculas intervenientes, a partir de secreções cervico-vaginais, líquido amniótico e sangue periférico. Assim, idealmente, com métodos inócuos de detecção química destas moléculas, simples e expeditos, sensíveis e específicos para a condição em estudo, ser-nos-á possível uma adequada selecção de mulheres

assintomáticas em potencial risco de desenvolver parto pré-termo, ou realizar o diagnóstico precoce da etiologia infecciosa em mulheres com ameaça de parto pré-termo.

Inúmeros estudos têm sido realizados com o intuito de determinar a acuidade diagnóstica dos vários testes candidatos, definindo a sua sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivo e negativo. Infelizmente, raros têm sido aqueles considerados potencialmente benéficos para uso clínico num futuro próximo, mostrando a maioria uma baixa sensibilidade, especificidade e valor preditivo positivo para o Parto pré-termo causado pela Infecção. Os que apresentam adequada sensibilidade e especificidade teórica são frequentemente expressos unicamente no líquido amniótico, impossibilitando a inocuidade da sua utilização como teste diagnóstico, dada a necessidade da realização de amniocentese. Actualmente deparamo-nos com a pesquisa de novos marcadores, mais sensíveis e específicos para esta condição, assim como com a determinação da sua aplicabilidade clínica, eficácia e segurança. Seria dar um grande passo em frente, na prevenção do Parto pré-termo, o desenvolvimento destes novos testes, simples, rápidos, não invasivos e seguros capazes de mensurar marcadores de inflamação intra-uterina, que permitam uma definição precoce de risco de Parto pré-termo associado à Infecção e atitudes terapêuticas mais atempadas (Keeler et al., 2009 ; Grgic et al., 2010; Jelliffe-Pawlowski et al., 2010; Oggé et al., 2011).

Faremos, de seguida, uma síntese das várias moléculas sugeridas como potenciais marcadores de Infecção intra-uterina e cuja mensuração poderá, pelo menos teoricamente, ser útil no diagnóstico precoce do Parto pré-termo de etiologia infecciosa e cuja síntese apresentamos no **Quadro 2**. De referir que muitos destes testes de diagnóstico (mensuração de marcadores) ainda não foram considerados aplicáveis à prática clínica pela falha, na maioria dos casos, de comprovação de uma adequada sensibilidade e especificidade, pelo menos quando utilizados

isoladamente (mensuração de um único marcador). Estudos recentes sugerem que ao considerar-se a presença conjunta de níveis elevados de dois ou mais dos marcadores numa data amostra (líquido amniótico, por exemplo), é conseguida uma maior sensibilidade e especificidade (foi reportada sensibilidade de 75-92,9% e especificidade de 75-91,8% para algumas destas combinações). Os melhores resultados foram conseguidos para combinações de marcadores detectados no líquido amniótico, o que impossibilita a inocuidade da mensuração. No entanto, mesmo que necessária a amniocentese, deverão ser considerados os benefícios e os riscos. Se podermos garantir um diagnóstico fidedigno de Infecção intra-uterina precoce e rápido, a sua utilização poderá estar justificada se tal atitude implicar um benefício em termos de prognóstico gestacional e neonatal.

**Quadro 2. Potenciais marcadores de infecção intra-uterina com potencial utilidade no diagnóstico precoce do parto pré-termo de etiologia infecciosa** (ADAPTADO DE: Heine et al., 1998 ; Jacobsson et al., 2003 ; Gravett et al., 2004 ; Gravett et al., 2007 ; Romero et al., 2008; Daskalakis et al., 2009 ; Cobo et. Al., 2009; Bogavac et al., 2009; Sorokin et al., 2010; Hitti et al., 2010; Chaiworapongsa et al., 2008; Kouchý et al., 2009).

Líquido amniótico

Contagem de leucócitos

**PCR**

[Glucose]

**IL-6**

**IL-8**

**IL-18**

**MMP-8**

**MMP-9**

**MIF (factor inibidor da migração de macrófagos)**

**Defensinas 1**

**Defensina 2**

**Defensina 3**

**Calgranulina A**

**Calgranulina C**

Calgranulina B

Azurocidina

IGFBP-1 (proteína ligante do factor de crescimento tipo insulina 1)

Sangue periférico

IL-8

Calgranulina B

IGFBP-1

Secreções cervico-vaginais

**IL-6**

*MMP-9*

*Calgranulina A*

*Calgranulina B*

*Calgranulina C*

*Azurocidina*

*Anexina II*

*Lipocalina*

*IGFBP1 (Proteína ligante do factor de crescimento tipo-insulina 1)*

*Haptoglobina*

*Cistatina A*

*Glicoproteína ácida alfa-1*

*Proteína ligante de Vitamina D*

*Proteína ligante de ácidos gordos*

*Fibronectina*

## Prevenção

*“O principal objectivo de qualquer estratégia terapéutica ou preventiva do parto pré-termo é a melhoria do prognóstico perinatal e neonatal e não só a diminuição da taxa do parto pré-termo” (Keelan, 2010)*

A tentativa, já há tanto preconizada, de prevenir o Parto pré-termo, reduzindo ou eliminando factores de risco específicos, não mostrou ter impacto na taxa de Parto pré-termo, nem na morbimortalidade a ele associada, salientando-se, desde então, a natureza complexa deste síndrome. Só uma abordagem preventiva, considerando a sua natureza multifactorial, conhecedora da dinâmica entre os diversos factores implicados, poderá ser eficaz.

A prevenção poderá ser feita a três níveis: primário, secundário, terciário. A prevenção **primária** é dirigida a todas as mulheres em idade fértil com o intuito de diminuir ou eliminar factores de risco; a **secundária**, dirigida a todas aquelas consideradas de risco para o desenvolvimento de Parto pré-termo, assintomáticas, através da aplicação de medidas preventivas precoces; e a **terciária** às mulheres em Ameaça de Parto Pré-termo, com o intuito de prolongar a gravidez, reduzir a taxa de parto pré-termo e a morbimortalidade a ele associada.

Ao definirmos medidas preventivas, não deveremos apenas garantir a sua eficácia mas também a sua inocuidade. Ao pretendermos prolongar uma gravidez com o intuito de promover a maturação fetal e conseqüentemente diminuir as complicações associadas à imaturidade, teremos que, além disso, ter em conta os potenciais riscos inerentes a essa atitude, visto que poderemos prolongar a exposição fetal a um ambiente hostil, cujos riscos poderão ser superiores a qualquer potencial benefício. Assim, ao definirmos uma determinada

medida terapêutica preventiva para o Parto pré-termo, será necessário considerar e responder às seguintes questões: “A medida preventiva tem impacto na taxa de parto pré-termo?”, “É capaz de melhorar o prognóstico materno e fetal diminuindo a morbi-mortalidade?”, “Que riscos apresenta?”.

Tendo em conta, ainda, que na maioria das situações, antes que uma Ameaça de Parto Pré-termo esteja estabelecida, não serão revelados quaisquer sinais ou sintomas inerentes a uma causa específica (como a colonização microbiana da cavidade uterina), será de extrema importância a selecção adequada das mulheres assintomáticas em risco, passando esta pela compreensão da etiopatogenia subjacente e pela elaboração de adequadas ferramentas de diagnóstico. Só identificando os riscos precocemente será possível uma atitude terapêutica atempada. Num segundo plano, perante um quadro de Ameaça de Parto Pré-termo, será de extrema importância conhecer a causa subjacente, com o mesmo intuito de direccionar as estratégias preventivas (Lang et al, 2009).

## **TERAPÊUTICA**

### **Antibióticos**

Comprovado o importante papel etiológico da Infecção no Parto pré-termo, é intuitivo sugerir, como primeira estratégia terapêutica preventiva, a erradicação dessa Infecção pelo uso de antibióticos.

No que diz respeito ao seu uso na prevenção terciária do Parto pré-termo, ou seja, em mulheres com Ameaça de Parto Pré-termo, vários têm sido os estudos realizados nos últimos anos para testar a sua eficácia em prolongar a gravidez e em diminuir a morbimortalidade perinatal. Embora com alguns resultados díspares, parece haver um grau de consensualidade

significativo. Neste contexto, foi testada a sua eficácia em duas circunstâncias clínicas diferentes: em mulheres com Ameaça de Parto Pré-termo e membranas intactas e em mulheres com Ruptura Prematura de Membranas Pré-termo. Chegou-se à conclusão que no segundo grupo de mulheres o seu uso é eficaz em prolongar a gravidez, em diminuir as taxas de Parto pré-termo (nas primeiras 48h, nos primeiros 7 dias e considerando partos antes das 37 semanas), as taxas de morbimortalidade neonatal (com diminuição da incidência de Sepsis, Displasia Broncopulmonar e Leucomalácia Periventricular) e a incidência de Corioamniotite clínica e histológica, tal como comprovado na revisão sistemática de vários estudos clínicos aleatórios, englobando 4.826 mulheres, feita por Kenyon (2003). Relativamente ao primeiro grupo, não foi reportado qualquer benefício nos três parâmetros considerados, concluindo-se que em Ameaças de Parto Pré-termo com membranas intactas o uso de antibióticos não é eficaz em prolongar a gravidez nem em diminuir a mortalidade perinatal. Estes últimos resultados foram reportados pelas revisões sistemáticas de King e Fernady (2007), englobando 6.295 mulheres e de Sincox (2007) englobando 1.291 mulheres. Kenyon (2008ab) realizou um estudo retrospectivo considerando o impacto da antibioterapia no desenvolvimento dessas mesmas crianças, aos 7 anos. Documentou que, em crianças nascidas de mães com Ruptura Prematura de Membranas Pré-termo tratadas com Eritromicina, não parece haver qualquer benefício ou risco. Já em crianças nascidas de mães com Ameaça de Parto Pré-termo e membranas intactas o uso de Eritromicina está associado a um aumento da taxa de distúrbios do neurodesenvolvimento com aumento da incidência de Paralisia Cerebral. Bedford Russel sugeriram posteriormente que *“A supressão antibiótica da infecção poderá prolongar a exposição fetal a um ambiente hostil”* .

A ausência de benefício comprovado para o uso de antibióticos em mulheres com Ameaça de Parto Pré-termo e membranas intactas parece dever-se, para alguns autores, a alguns factores de enviesamento, como a inadequada selecção das doentes que realmente beneficiariam dessa terapêutica, visto que a maioria dos estudos não discrimina as mulheres com flora vaginal anormal das mulheres com flora normal. Nestas não se justificaria, nem seria possível demonstrar, qualquer benefício no seu uso, podendo estes contribuir até para uma modificação da flora normal e aumento da morbilidade infecciosa. Saliente-se o facto de inúmeros estudos feitos nestas circunstâncias utilizarem antibióticos sem cobertura para os microrganismos mais frequentemente envolvidos (nomeadamente a Amoxicilina e a Eritromicina) e/ou por períodos de duração inadequada para uma adequada erradicação (períodos curtos, de toma única, ou de 48 horas). Por último, considerando que o Parto pré-termo de etiologia infecciosa ocorre devido ao processo inflamatório subjacente e não pela presença microbiana *per se*, e que este processo precede em várias semanas o início da Ameaça de Parto Pré-termo, foi sugerido que na admissão hospitalar já existam alterações irreversíveis, o que dificulta qualquer potencial acção benéfica do tratamento antibiótico. Além disso, o uso de antibióticos mesmo que eficaz na erradicação bacteriana, não suprime a resposta inflamatória já instalada, podendo mesmo agravá-la, pela libertação de produtos imunogénicos resultantes dessa destruição, prolongando-se a exposição fetal a um ambiente inflamatório hostil. Como já atrás referimos, está hoje bem estabelecida a relação causal entre “*grau de resposta inflamatória gerada*” e “*gravidade de lesões orgânicas fetais*”, sendo que a primeira constitui um factor independente de morbilidade neonatal, independentemente da idade gestacional (Kenyon et al., 2003 ; King e Fenardy, 2007 ; Lamont et al., 2008 ; Hutzal et al., 2008; Peebles, 2008; Russell et al., 2008; Smith et al., 2009; Meloni et al., 2009; Tita et al., 2010).

No que se refere ao uso de antibióticos, como medida de prevenção secundária em mulheres assintomáticas consideradas “de risco” para Parto pré-termo e no 2.º trimestre da gestação, vários foram também o estudos realizados considerando diversas condições clínicas (**Quadro 3**), com o intuito de testar a sua eficácia na diminuição da taxa de Parto pré-termo.

**Quadro 3. Condições clínicas estudadas no âmbito da antibioterapia preventiva no 2º trimestre da gravidez**

<p><i>Bacteriúria Assintomática</i></p> <p><i>Vaginose Bacteriana</i></p> <p>Infecções vaginais específicas:</p> <p><i>Trichomonas vaginalis</i></p> <p><i>Chlamydia trachomatis</i></p> <p><i>Gardnerella vaginalis</i></p>
--

Referir-nos-emos em maior detalhe ao uso de antibiótico no tratamento da Vaginose Bacteriana, em mulheres assintomáticas no 2.º trimestre da gravidez, com intuito preventivo do Parto pré-termo, uma vez que esta tem sido a condição com maior relevância etiopatogénica nos últimos anos para a qual parece existir um verdadeiro risco associado.

Três das principais revisões sistemáticas neste âmbito (Citadas por Smith et al., 2009) foram reportadas por Leitich (2003) (englobando 3.969 mulheres entre as 8 e as 35 semanas de gestação); por Okun , (2005) (englobando 6.728 mulheres entre as 12 e as 27 semanas); e por McDonald (2007) (englobando 5.888 mulheres no 2.º trimestre), considerando mulheres de baixo e de alto risco. Todos eles chegaram à mesma conclusão: o tratamento antibiótico da Vaginose Bacteriana é eficaz em erradicar a Infecção, normalizando a flora vaginal mas não reduz a taxa de Parto pré-termo (considerado aquele ocorrido antes das 37 semanas).

Os resultados obtidos nos vários estudos, testando a eficácia da antibioterapia na prevenção do Parto pré-termo nas variadas situações clínicas acima mencionadas, são contraditórios, com resultados muito variáveis, no que diz respeito à eficácia da antibioterapia em diminuir a taxa de parto pré-termo e em diminuir as taxas de mortalidade e morbidade neonatais. Esta variabilidade de resultados parece dever-se às populações estudadas, de diferentes características (diferentes idades gestacionais; alguns estudos considerando só mulheres de alto risco, outros de baixo risco, outros ambas); um número muito variável de mulheres seleccionadas para os diversos estudos (vários estudos com um número muito restrito); metodologias diferentes (considerando diferentes critérios para o diagnóstico das diferentes condições); e diferentes tipos de antibioterapia (tipo de antibiótico, idade gestacional em que é usado, posologia e duração da terapêutica). Neste último parâmetro a maioria dos estudos refere-se ao uso de um  $\beta$ -lactâmico (Amoxicilina ou Ampicilina) ou de um aminoglicosídeo (Eritromicina ou Azitromicina), enquanto que uma minoria deles utilizou Clindamicina e/ou Metronidazol, cujos espectros de acção são considerados mais adequados para a cobertura dos microrganismos mais frequentemente envolvidos. No que se refere à duração da terapêutica, vários estudos utilizaram uma única dose ou tratamentos com duração de 48 horas enquanto que uma minoria utilizou terapêuticas mais prolongadas (7 dias). Devido a esta heterogeneidade nos estudos realizados não foi possível chegar a conclusões definitivas até à presente data (Lang et al., 2009).

Tendo em conta todo o anteriormente reportado, várias considerações quanto ao uso profiláctico de antibióticos no Parto pré-termo devem ser tidas em linha de conta. O antibiótico escolhido deverá cobrir os microrganismos mais frequentemente envolvidos na etiopatogenia do parto pré-termo (a Clindamicina foi o único até hoje testado com tais características); deverá ser utilizado precocemente na gravidez e por um período adequado

(sendo actualmente aceite as 16 semanas de gestação como o momento ideal para iniciar a terapêutica, quando esta esteja indicada), antes que estejam presentes alterações irreversíveis, ou seja, antes que seja esta impossibilitada a reversão de toda a cascata de fenómenos inflamatórios gerados. O uso de antibióticos deverá estar restringido a mulheres cujo risco de Parto pré-termo se deva à Infecção, o que torna necessária uma selecção precisa das doentes comprovando-se objectivamente anormalidades da flora vaginal. O seu uso é inapropriado em mulheres cujo risco seja devido à presença de outros factores, não infecciosos.

Os estudos recentemente efectuados, que utilizaram Clindamicina precocemente na gravidez (por volta das 16 semanas), em mulheres com risco demonstrável de PPE de etiologia infecciosa (flora vaginal anormal objectivamente demonstrada por esfregaço das secreções vaginais), reportaram uma diminuição de 40-60% na taxa de parto pré-termo (Lamont et al., 2008 ; Petraglia et al., 2009).

Foram propostas várias possíveis razões que justificariam o insucesso da antibioterapia (Keelan et al, 2010):

- Na altura da admissão clínica (mulheres em Ameaça de Parto Pré-termo) a inflamação está já frequentemente avançada, de forma que, para que o uso de antibióticos fosse eficaz teria não só que reduzir a Infecção mas também a resposta inflamatória a ela associada.
- A lise bacteriana, promovida por alguns antibióticos, poderá amplificar o estímulo ao sistema imunitário inato, aumentando a libertação de mediadores inflamatórios, amplificando assim a possibilidade de que o parto ocorra prematuramente.

- Os antibióticos poderão alterar a composição da flora vaginal, permitindo a colonização por microrganismos oportunistas, particularmente quando existe previamente uma flora normal (necessidade da adequada selecção das doentes).
- Os antibióticos poderão ainda ter efeitos deletérios no feto.

### **Anti-inflamatórios**

A relevância da inflamação na etiopatogenia do Parto pré-termo, e o relativo insucesso do uso de antibióticos na profilaxia do mesmo, levou ao estudo de outras classes farmacológicas, nomeadamente dos anti-inflamatórios. No entanto o uso de agentes anti-inflamatórios é uma área ainda pouco estudada no que respeita ao seu potencial papel benéfico na prevenção do parto pré-termo. Novos agentes anti-inflamatórios têm sido testados, visto que os clássicos anti-inflamatórios não esteróides (AINES) têm efeitos secundários consideráveis e o benefício da sua utilização é questionável (Keelan et al., 2010).

Os fármacos anti-inflamatórios são, pelo menos teoricamente, benéficos na melhoria do prognóstico perinatal e neonatal, uma vez que o processo inflamatório subjacente ao Parto pré-termo de etiologia infecciosa, particularmente a resposta inflamatória fetal, parece desempenhar um importante papel na sua fisiopatologia. Prevenindo ou diminuindo essa resposta poderíamos diminuir a incidência de sequelas.

Focar-nos-emos a este respeito nos agentes anti-inflamatórios mais recentemente estudados, cujo potencial papel nesta temática ainda se encontra em estudo.

### **Anti-inflamatórios não esteróides (AINEs)**

A síntese de prostaglandinas (PGs), a partir do metabolismo do ácido araquidónico, é feita por uma classe específica de enzimas, as ciclooxigenases (COX), que existem sob duas isoformas: 1 e 2. A isoforma 1 ou COX-1 é uma enzima expressa de forma constitutiva em praticamente todas as células, permanecendo a sua concentração estável durante toda a gestação e durante o parto. Já a isoforma 2 ou COX-2 é uma enzima indutiva, cuja expressão aumenta à medida que a gestação progride, evidenciando um pico de concentração no termo da gestação, cujo valor duplica durante o trabalho de parto, regressando depois do parto aos valores normais. Esta isoforma (2) é estimulada por citocinas e factores de crescimento.

Tendo em conta a acção inibidora dos AINEs na produção de prostaglandinas, foi proposta a sua possível acção benéfica como fármacos profilácticos do Parto pré-termo. Tal acção benéfica poder-se-ia manter considerando um Parto pré-termo de causa infecciosa visto que inibem uma das classes moleculares de maior relevância nesse contexto – as prostaglandinas. A Indometacina (fármaco inibidor da COX-1 e 2, não selectivo) é um fármaco tocolítico já há muito estudado. Apesar da sua eficácia no prolongamento da gravidez, apresenta alguns riscos como: constrição do ducto arterial com persistência do mesmo no período neonatal; Hemorragia Intra-ventricular; Enterocolite Necrotizante; oligúria e oligoâmnios. Devido a estes riscos potenciais o seu uso em segurança na profilaxia do Parto pré-termo está restringido a um ciclo curto inferior a 72 horas (King et al., 2005; Koren et al. 2006).

Ainda não existem estudos em humanos que comprovem a eficácia e segurança dos inibidores selectivos da COX-2 (Nimesulida<sup>®</sup>, Colecoxib<sup>®</sup> e Rofecoxib<sup>®</sup>) na profilaxia do Parto pré-termo. A nível laboratorial, experimental, parece que o seu uso está associado a menor incidência de efeitos secundários, o que seria vantajoso. O Meloxicam<sup>®</sup> parece ser, experimentalmente, o mais seguro e eficaz, aparecendo, assim, como um tocolítico promissor

com actividade anti-inflamatória cujo uso poderá ser benéfico na profilaxia do Parto pré-termo, particularmente daquele causado pela Infecção, visto que contribuirá, teoricamente, para a diminuição da resposta inflamatória, base desse mesmo processo. Nos últimos anos tem sido sugerido um possível efeito adverso cardiovascular destes fármacos selectivos, embora pareça que o risco teórico exista quando usados em populações idosas, com morbilidades associadas, o que não acontece na maioria das populações de mulheres grávidas, geralmente jovens e sem co-morbilidades importantes. Quando estas existam, esse risco deverá ser considerado. Mais estudos serão possivelmente necessários para estabelecer a eficácia, segurança e inocuidade do seu uso, no contexto da profilaxia do parto pré-termo associado à infecção (Loudon et al., 2003 ; Rac et al., 2006).

### **Inibidores da “MAP-quinase” (“Proteínas-quinase activadas por mitógenos”)**

Esta classe de fármacos tem sido amplamente estudada, no contexto de várias doenças inflamatórias crónicas, com sucesso limitado, devido aos seus efeitos secundários e ausência de eficácia clínica.

A enzima “p38-MAP-quinase” é estimulada por sinais inflamatórios de natureza diversa, levando à expressão de genes codificadores de citocinas pró-inflamatórias (TNF-alfa, IL-6 e IL-1beta). A sua acção no processo subjacente ao parto pré-termo de etiologia infecciosa foi já determinada com o recurso a estudos *in vitro* e *ex vivo*: é estimulada pelos LPS (lipopolissacarídeos bacterianos), amplificando a libertação de várias citocinas pró-inflamatórias. Além do seu papel patológico, intervêm fisiologicamente na regulação celular, a diversos níveis, promovendo o crescimento e diferenciação placentares, cuja inibição é deletéria.

Não existem até à data estudos publicados que avaliem a sua segurança e toxicidade na gravidez. Segundo alguns autores será pouco provável que os inibidores da “MAP-quinase” possam ter uma acção farmacológica benéfica e eficaz na prevenção do parto pré-termo (Keelan et al., 2010).

### **Inibidores da Fosfodiesterase (PDE)**

Vários estudos, *in vitro* e *in vivo*, demonstraram que têm uma acção anti-inflamatória e tocolítica.

A enzima fosfodiesterase-4 (PDE-4) é a isoforma principal nas membranas fetais. É uma enzima estimulada por LPS bacterianos, promovendo a libertação de citocinas pró-inflamatórias (nomeadamente TNF-alfa), metaloproteinases de matriz (MMPs) e prostaglandinas (PGs).

O uso experimental de Rolipram (um inibidor selectivo da fosfodiesterase-4), em ratos, revelou a sua eficácia em bloquear o parto pré-termo desencadeado pela exposição ao LPS, através da inibição da resposta inflamatória. Além disso, demonstrou ter ainda uma acção inibitória directa sobre a actividade contráctil do miométrio. No entanto, devido aos efeitos secundários evidenciados, foi sugerida a necessidade de definir inibidores com maior selectividade de acção (Vermillion e Robinson, 2005; Keelan et al., 2010).

### **Antagonistas do Factor de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ )**

A molécula TNF- $\alpha$  medeia grande parte dos efeitos anti-inflamatórios mediados pela LPS. O Infliximab® e o Etanercept®, dois dos fármacos mais estudados desta classe, bloqueiam a acção do TNF- $\alpha$ . Estudos experimentais em ratos expostos a lipopolissacarídeos bacterianos

(LPS) demonstraram que o uso desta classe de fármacos bloqueia ou diminui a expressão dos genes codificadores de citocinas pró-inflamatórias, diminuindo os mediadores inflamatórios no compartimento materno e fetal e diminuindo subsequentemente a taxa de parto pré-termo. Dado que após a sua administração as concentrações fetais de fármaco atingidas são superiores às maternas, parece promissor o seu uso, com capacidade potencial para bloquear a Resposta Inflamatória Sistémica Fetal, intimamente associada a diversas sequelas neonatais. As evidências existentes indicam que não estão associados a toxicidade embrionária, teratogenicidade ou aborto, tendo sido sugerido unicamente um aumento na incidência da síndrome “VACTERL” (conjunto de anomalias congénitas vertebrais, anais, cardíacas, traqueo-esofágicas, renais e nos membros) tornando necessários mais estudos para avaliar a sua eficácia e segurança. Até à data não existem estudos clínicos que avaliem o seu uso para o tratamento ou prevenção de complicações gestacionais em humanos, nomeadamente o parto pré-termo de etiologia infecciosa, nem foi testada a sua eficácia em prevenir a inflamação a nível placentar. Mais estudos serão necessários para definir a sua eficácia e inocuidade (Keelan et al., 2010).

### **Inibidores do factor nuclear de transcrição “kappa-B” ou “NF-kb”**

A estimulação dos receptores tipo “Toll” (TRL) (particularmente os da isoforma 4) por endotoxinas bacterianas (LPS) é responsável pelo aumento da expressão de genes codificadores de citocinas pró-inflamatórias. Esse estímulo à expressão genética a nível nuclear é conseguida pelo factor “NF-kb”, via esta que é hoje considerada de grande relevância no processo inflamatório subjacente ao parto pré-termo de etiologia infecciosa.

O inibidor mais estudado no contexto da prevenção do parto pré-termo é a N-acetilcisteína (NAC) - um agente farmacológico usado principalmente como agente mucolítico -

amplamente testado laboratorialmente em ratos e em membranas fetais humanas após dequitação. Está comprovada a sua capacidade de inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias, prostaglandinas e metaloproteinases de matriz, estimuladas por LPS bacterianas, sendo considerado actualmente um fármaco com potencial para a prevenção do parto pré-termo de etiologia infecciosa.

Um ensaio clínico aleatório recente (caso-controlo) comparou o uso isolado de 17-hidroxi-progesterona e o seu uso combinado com NAC, em mulheres consideradas de alto risco por parto pré-termo prévio e vaginose bacteriana comprovada. O uso combinado demonstrou estar associado a uma diminuição significativa da incidência de parto pré-termo, aumento do peso à nascença e diminuição das taxas de mortalidade e morbidade neonatais. Uma limitação que se pode apontar às conclusões deste estudo é o facto das propriedades anti-inflamatórias da progesterona poderem constituir um factor de enviesamento de resultados (Shahin et al., 2009).

Outro fármaco desta classe que tem sido testado é a Sulfasalazina (SSZ) (um aminossalicilato), um agente anti-microbiano e anti-inflamatório amplamente usado, mesmo na gravidez, para o tratamento de variadas patologias inflamatórias crónicas como, Doença de Crohn, Colite Ulcerosa e Artrite Reumatóide. Estudos *in vitro* e *ex vivo* demonstraram a sua capacidade em diminuir a produção de citocinas pró-inflamatórias pelas membranas fetais e decídua, quando da estimulação com LPS, além de ter uma acção a nível endocervical, bloqueando a produção basal de IL-8. Foi demonstrado ainda que a sulfasalazina inibe a activação dos macrófagos e suprime a expressão do complexo major de histocompatibilidade de classe II, induzida pelo INF- $\gamma$ . Apesar da sua potencial acção benéfica na prevenção da inflamação subjacente ao parto pré-termo, está comprovada a sua capacidade de induzir

apoptose celular a nível coriônico com degradação eventual e perda da integridade e função (como demonstrado em estudos *in vitro*). No entanto, estudos retrospectivos clínicos sugerem que a sua administração na gravidez não está associada a qualquer aumento de risco de malformações congénitas, morbidade ou mortalidade. Mais estudos serão possivelmente necessários para definir a sua eficácia e inocuidade na prevenção do parto pré-termo de etiologia infecciosa (Hasko et al., 2008).

Por último, outro fármaco desta classe, amplamente testado *in vitro*, é o “TCPA-1”, um inibidor da quinase humana  $\text{I}\kappa\text{B-2}$  (*I-kappa kinase*), um inibidor da produção de citocinas pró-inflamatórias induzida por endotoxinas bacterianas, mas que não compromete a viabilidade celular. Não tendo sido realizados quaisquer estudos clínicos ou cultura de tecidos, será necessário evidenciar a sua capacidade inibitória da inflamação a nível placentar assim como a sua eficácia e inocuidade na prevenção do parto pré-termo (Peltier et al., 2009 ; Keelan, 2010).

Tendo como ponto de partida os fármacos atrás mencionados, e os seus efeitos, parece hoje que será possível, num futuro próximo, desenhar novos fármacos, com maior selectividade, cuja eficácia e segurança deverão ser rigorosamente avaliadas, *in vivo* e *ex vivo*, antes que se possa partir para ensaios clínicos. Um risco potencial, que poderá ser atribuído ao uso de fármacos anti-inflamatórios, é o facto de poderem comprometer a adequada activação da resposta imunitária materna, inata e adaptativa, podendo, teoricamente, aumentar a susceptibilidade a infecções.

### **Progesterona**

Há décadas que é reconhecido o papel da progesterona na manutenção da normal quiescência uterina durante a gravidez. Esta hormona actua através da supressão do sistema “cálcio-

calmodulina-quinase de miosina”, pela alteração do potencial de membrana das células miométrais, inibindo as contracções através da manutenção de um nível de cálcio intracelular baixo e pela inibição da geração de potenciais eléctricos membranares. Além disso, têm sido recentemente comprovadas as suas propriedades anti-inflamatórias, o que põe de manifesto uma possível relação entre “reação inflamatória” e “alteração da expressão de receptores progesterona”, uma potencial interacção de relevância na etiopatogenia do Parto pré-termo (Foglia et al., 2010).

Os receptores de progesterona existem sob duas formas “A” (PR-A), forma potenciadora da contracção uterina e “B” (PR-B), forma inibitória da contracção. Durante o parto aumenta a razão PR-A/PR-B, diminuindo a acção da progesterona sobre a forma B, mecanismo que será responsável por um aumento da sensibilidade das células miométrais aos estímulos contrácteis. Tal fenómeno ocorrerá mesmo perante níveis séricos elevados e mantidos de progesterona. A produção de prostaglandinas (PGs) antes do parto é responsável pelo aumento dessa razão. Por outro lado, a progesterona é conhecida hoje como uma molécula inibitória da produção de prostaglandinas a nível decidual e corioamniótico, via esta que tem sido explorada como possível via farmacológica para uma acção terapêutica profiláctica do Parto pré-termo, cuja base é essencialmente a activação anómala de um processo inflamatório. Tem-se demonstrado que essa via é válida e que pode ser utilizada como base do tratamento farmacológico, embora o mecanismo exacto, pelo qual tal acontece, seja ainda desconhecido.

A experimentação animal, criando modelos de inflamação intra-uterina, permitiu verificar que o pré-tratamento com progesterona inibia o processo inflamatório (traduzido pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias no líquido amniótico) e, subsequentemente, as contracções uterinas e o apagamento cervical subjacentes a um parto precoce. Adicionalmente, nos

últimos anos, tem sido sugerido que a regulação dos receptores tipo “Toll” (TRL) seria um dos mecanismos através dos quais seria precipitado o Parto pré-termo na presença de um estímulo inflamatório, nomeadamente infeccioso, como anteriormente citado. Verificou-se, tendo por base este conceito, que nos mesmos modelos animais, o pré-tratamento com progesterona inibia a sobreexpressão desses receptores, o que se traduzia numa inibição da produção de variados mediadores inflamatórios, como as citocinas. Em estudos placentares chegou-se mais longe, verificando-se que a progesterona terá uma acção dirigida e selectiva para certos tipos de células inflamatórias (como as mononucleares), visto que a indução da produção de IL-6 por estas, em presença de LPS bacteriano, ser inibida com o pré-tratamento com progesterona (Jacobson B., 2005).

Nos últimos anos tem sido dada nova ênfase ao seu potencial papel benéfico na profilaxia do Parto pré-termo em mulheres assintomáticas consideradas de risco. Diversos ensaios clínicos randomizados comprovaram uma diminuição da taxa de parto pré-termo antes das 34 semanas de gestação. Ainda por determinar está o seu papel no prognóstico neonatal e infantil. As conclusões que podemos retirar de uma revisão de 11 estudos englobando 2.714 mulheres e 3.452 crianças, feita por Jacobson B. (2005) são as seguintes: o uso de progesterona, em mulheres assintomáticas com história de Parto pré-termo prévio, ou em mulheres nulíparas assintomáticas, com colo uterino curto, mensurado no 2º trimestre, mostrou conseguir um prolongamento da gravidez, diminuindo a taxa de parto pré-termo antes das 34 semanas. No entanto, não foram reportadas quaisquer diferenças entre os grupos experimentais e os controlos no que concerne ao prognóstico neonatal, infantil ou à mortalidade perinatal. O seu uso não parece conseguir, com significado estatístico um prolongamento da gravidez, embora consiga uma diminuição estatisticamente considerável no que reporta ao uso de terapêutica tocolítica. Ainda é igualmente escassa a informação actual disponível quanto à melhor dose e

via de administração para o seu uso terapêutico, assim como a melhor idade gestacional para o iniciar (Dodd e Crowther, 2010).

### **Susceptibilidade Genética – Polimorfismos Genéticos**

É hoje reconhecida a importância da interação entre o património genético (materno e/ou fetal) e factores exógenos ambientais na determinação do risco para o desencadeamento de Parto pré-termo (Romero et al., 2010). Alguns dados epidemiológicos e clínicos sugerem uma componente genética para o risco de Parto pré-termo. Sabe-se hoje que uma mulher nascida de Parto pré-termo tem um risco acrescido de vir a ter partos pré-termo. Uma história regressa de Parto pré-termo confere à mulher um risco três vezes superior de ter um Parto pré-termo subsequente, numa idade gestacional similar, e parece haver, ainda, um risco acrescido quando existe história familiar de Parto pré-termo. É ainda relevante o facto de mulheres de etnia africana apresentarem um risco superior de Parto pré-termo comparativamente a mulheres de etnia caucasiana ou hispânica. Esta diferença tem sido atribuída a vários factores: menor vigilância perinatal, maior prevalência de infecções genito-urinárias, nomeadamente Vaginose Bacteriana, e/ou susceptibilidade genética aumentada (Gómez et al., 2010).

Como já anteriormente descrevemos, diversas biomoléculas têm um papel preponderante na etiopatogenia do Parto pré-termo, participando num processo que está na sua base – a Inflamação. Tais biomoléculas abarcam: citocinas pró-inflamatórias, receptores que intervêm no reconhecimento de estímulos inflamatórios (nomeadamente microrganismos), prostaglandinas e metaloproteinases de matriz. É intuitivo colocar então a hipótese de que polimorfismos genéticos codificadores destas moléculas poderão condicionar uma susceptibilidade para o parto pré-termo. Têm sido, neste âmbito, principalmente estudados três tipos de polimorfismos: de citocinas pró-inflamatórias e/ou anti-inflamatórias, de

receptores envolvidos no reconhecimento de microrganismos (principalmente dos receptores tipo “Toll”, TLR) e de metaloproteinases de matriz, envolvidas no metabolismo da matriz extracelular.

Tais polimorfismos parecem estar associados à elaboração de uma resposta inflamatória exagerada e desadequada (materna e/ou fetal), condicionando, assim, um risco aumentado para o Parto pré-termo. Contrariamente, as variantes genéticas associadas a uma resposta inflamatória suprimida, ou de menor magnitude, estariam associadas a uma diminuição do risco. O mesmo será dizer que variantes genéticas que condicionam uma produção aumentada de citocinas pró-inflamatórias estão associadas a um maior risco, enquanto variantes que condicionam a diminuição da produção das mesmas, ou o aumento de produção de citocinas anti-inflamatórias, conferirão uma protecção.

Por outro lado, é bem conhecida a componente genética humana na determinação da susceptibilidade individual a diversas infecções e mesmo na determinação da sua gravidade e mortalidade. No que se refere ao Parto pré-termo, não só uma resposta imunitária exagerada, ou desadequada, poderá estar associada, mas também, ou alternativamente, a existência de uma vulnerabilidade individual para a Infecção intra-uterina via ascendente poderá desempenhar um papel importante. O primeiro mecanismo tem sido o mais extensamente estudado e parece ser o de maior relevância neste contexto (Holsft et al., 2008).

Referimos, neste contexto, apenas alguns dos polimorfismos que maior consistência científica têm ganho na relação com o Parto pré-termo de etiologia infecciosa. Reportamos aqui os polimorfismos referentes a variações num único nucleótido, cuja presença está associada a um risco de Parto pré-termo, independentemente da sua presença homozigótica ou heterozigótica.

O factor de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) é uma citocina pró-inflamatória que promove a produção de metaloproteinases de matriz e inibe a produção de inibidores das metaloproteinases, promovendo, assim, o enfraquecimento das membranas e o apagamento cervical pela degradação de colagéneo. Além disso, parece antagonizar a acção da progesterona, promovendo um aumento na contractilidade uterina. Roberts et al. (1999) verificaram que certas variações alélicas na posição -308 da região promotora do gene codificador de TNF- $\alpha$  estavam associadas a um risco acrescido de Parto pré-termo. Estes autores constataram que a presença do alelo -308A (ou polimorfismo do tipo TNF-2) conferia um risco acrescido (em mulheres homozigóticas ou heterozigóticas para o mesmo). Posteriormente, Macones et al. (2004) reportaram uma associação entre esta variante alélica e Vaginose Bacteriana. Mulheres com Vaginose Bacteriana portadoras dessa variante alélica apresentariam um risco seis vezes superior de Parto pré-termo. Esta variante parece estar associada a uma produção exagerada e inadequada de TNF- $\alpha$  perante estímulos de natureza infecciosa. Aidoo et al (2001)(Citado por, Anum et al., 2009) referiram que a presença dessa variante alélica no património genético fetal (homozigótico ou heterozigótico) estaria também associado a um risco acrescido, independente, de parto pré-termo (OR 6,7-7,3 IC 95%).

Resultados semelhantes têm sido demonstrados para certos polimorfismos de genes codificadores de outras citocinas pró-inflamatórias (nomeadamente interleucinas): IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6 e IL-1 $\alpha$ . Alguns exemplos estão indicados na **Quadro 4** (Holsft et al., 2008; Himes et al., 2008; Anum et al., 2009).

**Quadro 4. Exemplos de polimorfismos associados a uma maior susceptibilidade genética para o parto pré-termo de etiologia infecciosa. (Adaptado de: Anum et al.,**

2009 ;Holsft et al., 2008; Himes et al., 2008)

MATERNOS		FETAIS	
Molécula	Polimorfismo	Molécula	Polimorfismo
TNF- $\alpha$	TNF (-308) ou TNF2	TNF- $\alpha$	TNF (-308) ou TNF2
IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ (+3953*2) IL-1 RN*1 IL-1 RN*2	IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ (+3953*2)
AR IL-1	IL1RA*2		
IL-6	IL-6 (-174 G>C) IL-6 (-174 C/C)		
IL-4	IL-4 (-590)	IL-4	IL-4 (-590)
IL-10	IL-10 A-T-A		
MMP-9	MMP9 (14CA)	MMP-9	MMP9 (14CA)
SERPINH1 (proteína de choque 47)	alelo -656T	TRL-2	TRL2 (T-16, 934A, Arg 753 Gln)
		MMP-1	(-799T, -381G, +174G)
		Interferão- $\gamma$	INFG +874T
<b>Outras moléculas envolvidas</b> Isoforma 1 do receptor de IL-6 (IL6R) Isoforma 1 do colagénio tipo IV $\alpha$ 3 (COL4A3) Lactotransferrina (LTF) Isoforma 1 do factor de crescimento de fibroblastos (FGF1) Proteína ligante de nucleótido de guanina $\beta$ 3 (GNB3) Factor-1 tipo insulina ou somatomedina C (IGF1) Inibidor tecidual da metaloproteinase 2 (TIMP2)		<b>Outras moléculas envolvidas</b> Precursor do factor III de coagulação (F3) Receptor A do péptido natriurético (NPR1) Isoforma 1 do precursor do receptor de IL-6 (IL6R) Tenascina R (restrictina, janusina) (TNR) $\beta$ pró-proteína de IL-1 (IL1B) Isoforma 3 da pré-proteína de fibronectina 1 (FN1) Precursor de IL-2 (IL-2) Isoforma 1 do factor de crescimento de fibroblastos (FGF1) Receptor 1 do Interferão $\delta$ (INFG $\delta$ ) Factor de crescimento tipo insulina 2 (IGF2) Pré-proteína do colagénio IV $\alpha$ -1 (COL4A1) Inibidor da metaloproteinase de matriz-2 (TIMP2)	

**Legenda:**

TNF – factor de necrose tumoral; IL- interleucina; AR – antagonista do receptor;MMP – metaloproteinase de matriz; TIMP – inibidor de metaloproteinase de matriz  
SERPINH1 -

Os receptores tipo “Toll” (TLR) são uma classe de moléculas centrais para o reconhecimento de microrganismos e para a elaboração de uma resposta imunitária inata e adaptativa, como já foi referido. A nível decidual são predominantes as isoformas TRL 1, 2, 4 e 6 sendo que a isoforma 4 (TRL-4) é a que parece ter o papel predominante no parto pré-termo associado à infecção. Certos polimorfismos no gene TRL-2 determinam, no território genético fetal, um aumento do risco Para parto pré-termo. No entanto, o papel deste tipo de polimorfismos no território genético materno ainda não está bem estabelecido (Himes et al, 2008 ;Holst et al., 2008; Anum et al., 2009; Romero et al., 2010).

Alguns estudos recentes, como o reportado por Gómez et al. (2010) têm tentado encontrar possíveis associações entre certos polimorfismos genéticos e a Vaginose Bacteriana. Foram já definidos alguns polimorfismos, que quando presentes em mulheres com Vaginose Bacteriana assintomática no 2º trimestre conferem um risco aumentado de Parto pré-termo. Tais polimorfismos são apresentados no **Quadro 5**.

**Quadro 5. Polimorfismos associados a um maior risco de parto pré-termo aquando do diagnóstico de vaginose bacteriana em mulheres assintomáticas no 2º trimestre** (Adaptado de : Gómez et al., 2010).

Polimorfismo num só nucleótido no gene PRKCA (proteína quinase C alfa)
Rs1003599
Rs10491202
Rs11658528
Rs16960112
Rs17762314
Rs1990503

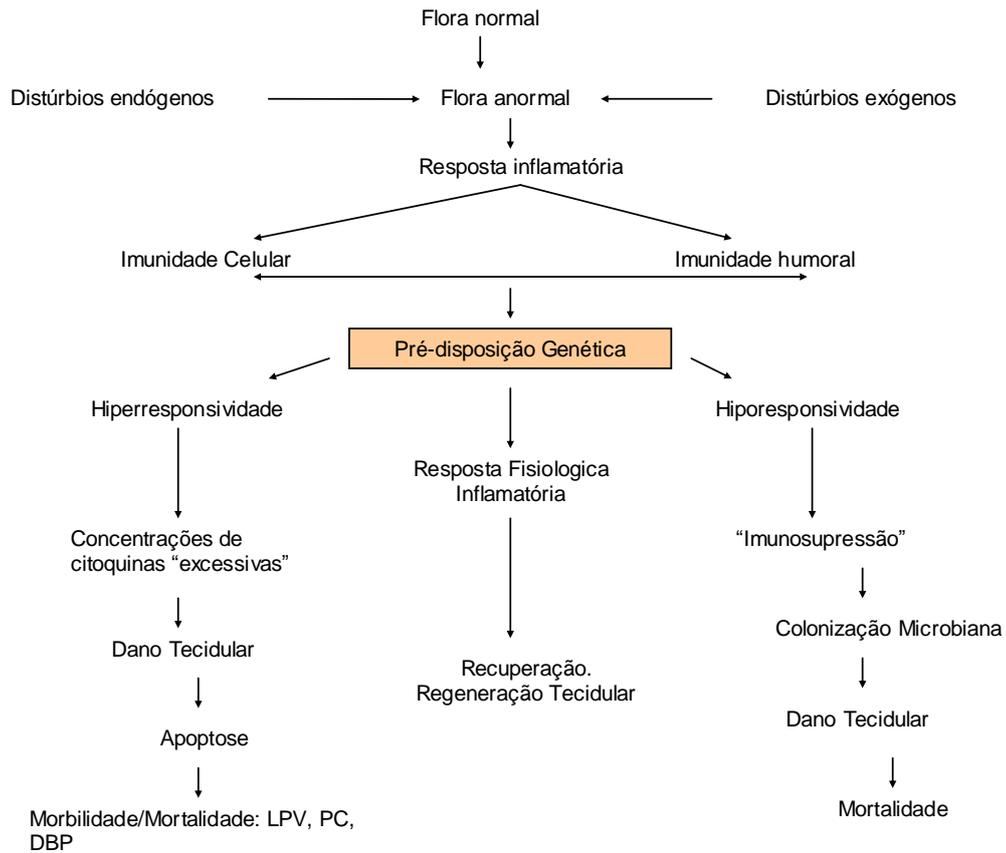
Estes polimorfismos resultam numa produção aumentada de “PRKCA”, molécula envolvida na resposta inflamatória e que facilita a migração leucocitária para a decídua e membranas fetais. À sua presença estaria associada uma resposta inflamatória de maior amplitude.

Paralelamente, outros polimorfismos foram associados a uma susceptibilidade aumentada de desenvolver Vaginose Bacteriana e/ou de desenvolver uma resposta inflamatória inadequada na sua presença. Mulheres que os possuem têm, assim, maior susceptibilidade a desenvolver Vaginose Bacteriana e/ou incapacidade na sua erradicação, com maior proliferação bacteriana e, conseqüentemente, maior risco de colonização ascendente e resposta inflamatória reaccional. Alguns dos exemplos destes polimorfismos genéticos são resumidos no **Quadro 6**.

**Quadro 6. Polimorfismos genéticos associados a um aumento da susceptibilidade para vaginose bacteriana** (Adaptado de Genc e Onderdonk 2011).

IL1B-511*T
IL1B+3954*T
TNFA-308*A
IL-6-174*C
TRL4 Asp299Gly

Os dados aqui revistos têm apenas, pelo menos até à data, um interesse teórico, investigacional, uma vez que o seu conhecimento não modificará a nossa conduta na abordagem clínica do parto pré-termo. Isto deve-se ao facto de nos depararmos com a impossibilidade da utilização de testes genéticos rotineiramente e de forma atempada, não só pelo seu preço, mas pela sua inacessibilidade e complexidade da sua execução.



**Figura 6. Resposta inflamatória inadequada regulada por polimorfismos genéticos em resposta a um estímulo infeccioso** (Adaptado de: Holst e Garnier, 2008).  
 (Legenda: LPV – Leucomalácia Periventricular, PC – Paralisia Cerebral, DBP – Displasia Broncopulmonar)

## **Discussão e Conclusão**

É bem conhecida a natureza inflamatória do trabalho de parto quer este seja de termo ou pré-termo. Ambos têm por base a criação de um microambiente inflamatório a nível coriodecidual com libertação de inúmeras moléculas biologicamente activas como citoquinas pró-inflamatórias, prostaglandinas e metaloproteinases de matriz, responsáveis, numa interacção complexa e em última instância, pelo despoletar dos mecanismos caracterizadores do trabalho de parto: contractilidade uterina frequente, regular e de intensidade capaz de induzir modificações cervicais, apagamento e dilatação do colo uterino e/ou ruptura de membranas. Participando estas moléculas em diversos processos, fisiológicos e patológicos, e sendo elas de origem celular variada, está assim criada a dificuldade em isolar e compreender vias moleculares específicas ao Parto pré-termo. Este resultará de uma activação precoce, assíncrona e anómala dos mecanismos moleculares fisiologicamente intervenientes, devido a um factor de índole patológica, como a Infecção. Este factor, particularmente a Infecção intra-uterina, tem surgido nos últimos anos como um factor predominante e de grande relevância em mais de 40% dos Partos pré-termo tidos como idiopáticos, principalmente naqueles ocorridos precocemente, antes das 32 semanas de gestação. A não especificidade molecular e bioquímica dificulta, ainda, a criação de ferramentas diagnósticas com sensibilidade, especificidade e acuidade suficientes para que sejam utilizáveis na prática clínica diária.

O estudo anatomo-patológico da placenta e o conhecimento das defesas inatas fisiológicas contra a Infecção intra-amniótica ganham, no contexto do estudo do Parto pré-termo de etiologia infecciosa, grande relevo. No âmbito da avaliação anatomo-patológica de uma placenta derivada de um Parto pré-termo de presumível etiologia infecciosa, poderá ser discutida a seguinte questão: “Corioamniotite é sinónimo de Infecção placentar?” – De facto, parece existir uma forte correlação entre “infiltração histológica das membranas por células polimorfonucleares (PMN)” e “positividade das culturas obtidas a partir de tecido placentar”; no entanto, a presença da primeira não é patognomónica da segunda, visto que é possível

comprovar-se infiltração leucocitária polimorfonuclear sem que seja comprovada microbiologicamente Infecção. Neste achado, poderão estar em causa: Infecção por vírus, fungos ou algumas bactérias não passíveis de identificação por métodos de cultura convencionais ou, alternativamente, poderão estar em causa factores etiológicos não infecciosos. A favor desta última explicação está o facto de outros processos patológicos (como o de Isquémia útero-placentária) poderem traduzir-se histopatologicamente por lesões inflamatórias compatíveis com Corioamniotite.

Por outro lado, a comprovação microbiológica de Infecção por métodos convencionais de cultura em líquido amniótico obtido por amniocentese ou em tecido placentar obtido após dequitação, nem sempre está associada a uma infiltração leucocitária tecidual. Poderíamos considerar, aqui, que a presença de um microrganismo não é isoladamente passível de induzir infiltração tecidual por células inflamatórias, sendo necessária, sim, uma resposta imune materna cuja tradução é, não só a infiltração leucocitária tecidual mas também todo o conjunto de fenómenos a ela associada, como a libertação de biomoléculas biologicamente activas a nível local e sistémico. A corioamniotite histológica, no rigor do conceito, traduz uma resposta inflamatória materna a um dado estímulo.

Quanto às várias moléculas do líquido amniótico (em condições normais), tidas como protectoras contra um processo infeccioso, seria plausível supor, neste contexto, que um Parto pré-termo de etiologia infecciosa poderá estar associado a um défice imunitário base, inato, envolvendo uma ou várias destas moléculas ou, alternativamente, a uma resposta imune anómala, envolvendo as mesmas moléculas. Como elucidado no decorrer desta revisão no que concerne à susceptibilidade genética para o Parto pré-termo de etiologia infecciosa, este será possivelmente desencadeado por uma resposta imune anómala, assíncrona e “exagerada” montada em resposta a um estímulo infeccioso. Esta resposta “aberrante” terá um componente genético, podendo-se, assim, explicar a maior incidência de Parto pré-termo em mulheres:

com história prévia de parto pré-termo, em mulheres da mesma família ou em mulheres de etnia negra.

Apesar do entendimento incompleto da etiopatogenia do Parto pré-termo de etiologia infecciosa, evidências crescentes de diversa natureza sustentam a relação “Infecção intra-uterina” e “Parto pré-termo precoce”. São elas: evidências Anatomo-patológicas, Microbiológicas (por amniocentese ou por análise de tecido placentar após dequitação), Imunológicas, Bioquímicas, Genéticas, Epidemiológicas, Clínicas e Experimentais (particularmente a experimentação animal).

Mais do que uma Infecção em sentido lato, na base de grande parte dos Partos pré-termo precoces estará uma Infecção intra-uterina cuja via é **Ascendente** (através do canal cervical a partir da colonização anormal do tracto genito-urinário inferior) e que é caracterizada por ser: progressiva, polimicrobiana, crónica e subclínica. **Progressiva** porque a invasão é feita temporo-espacialmente em estádios de gravidade crescente e associada a uma resposta inflamatória de amplitude também crescente; **Polimicrobiana** porque envolve a colonização por diversos microrganismos, principalmente aqueles relacionados com Vaginose Bacteriana (como os micoplasmas genitais); **Crónica** e **Subclínica** porque ocorre precocemente na gravidez, sendo latente e silenciosa até à instalação de um trabalho de parto pré-termo precoce. Quanto a este item, poderia ser proposta a hipótese de que a Infecção não é a causa do trabalho de Parto pré-termo mas sim consequência. Havendo ruptura de membranas, estaria livre o acesso à cavidade amniótica a microrganismos normalmente existentes no tracto genito-urinário inferior, sendo a colonização intra-uterina posterior à ruptura. Este mecanismo é cientificamente plausível mas por si só não exclui a teoria advogada nesta revisão. É provável que ambos coexistam – Uma Infecção latente poderá sim estar na origem do despoletar precoce do trabalho de parto e, uma vez que este seja iniciado, estarão

quebradas algumas barreiras anatomo-fisiológicas que protegem a cavidade uterina contra a Infecção ascendente (como a presença de muco e tonicidade do canal endocervical).

Partindo do pressuposto que numa grande percentagem de mulheres grávidas em Ameaça de Parto Pré-termo ocorrido antes das 32 semanas de gestação estará uma Infecção não evidenciada clinicamente, deparamo-nos com duas questões essenciais: “Como diagnosticá-la?” e “Como preveni-la?”.

Quanto ao **Diagnóstico**, e como anteriormente referido, têm sido sugeridos: a cultura microbiológica a partir de líquido amniótico obtido por amniocentese e a mensuração de marcadores bioquímicos em diversos líquidos orgânicos como sangue materno, sangue fetal, líquido amniótico e secreções cervico-vaginais. No primeiro caso deparamo-nos com os riscos potenciais de um procedimento invasivo (cujo risco de aborto espontâneo é de, aproximadamente, 1%) e com o pesar do “risco/benefício”, uma vez que mesmo que sejam identificadas as mulheres infectadas, não está comprovado o benefício do uso de Antibióticos nestas circunstâncias (em mulheres com Ameaça de Parto pré-termo e membranas intactas). Para além disso, ainda está por estabelecer, antes da decisão de proceder ou não a uma amniocentese na suspeita de Infecção, a selecção ideal das mulheres realmente em risco de Parto pré-termo de etiologia infecciosa. Quanto à quantificação de diversas biomoléculas, cujo papel é indiscutivelmente relevante na etiopatogenia do Parto pré-termo de etiologia infecciosa, deparamo-nos com vários problemas: nenhum deles mostrou até hoje ter sensibilidade, especificidade e acuidade suficiente para o diagnóstico desta afecção e, aqueles que melhor qualidade atingiram, são alguns dos presentes no líquido amniótico, e cuja presença noutras secreções é desvalorizável, o que implica a realização de uma amniocentese para a sua quantificação. A sua baixa sensibilidade e especificidade prende-se com o facto de serem biomoléculas de natureza inflamatória e que participam em inúmeros processos fisiológicos e patológicos, não sendo específicos de Infecção.

Deparamo-nos, hoje, assim, e dada a relevância da problemática em estudo, com a necessidade de criar ferramentas diagnósticas suficientemente inócuas, simples, sensíveis, específicas e cujo uso seja benéfico na prática clínica diária. Esse benefício será traduzido por uma melhoria do prognóstico neonatal e infantil, objectivo major de qualquer intervenção preventiva em relação ao Parto pré-termo.

A dificuldade de isolarmos as mulheres realmente em risco de vir a desenvolver um trabalho de Parto pré-termo de etiologia infecciosa reflecte-se no benefício escasso ou nulo das diversas atitudes terapêuticas preventivas já equacionadas ao longo dos últimos anos, visto que só seleccionando as mulheres que realmente beneficiarão de uma dada atitude terapêutica poderá ser provado sem qualquer dúvida o seu benefício potencial. Mesmo assim, nos últimos anos tem sido investigada a potencial acção benéfica de diversos fármacos, que pudessem ser usados na **Profilaxia** do Parto pré-termo de causa infecciosa. De particular relevância neste contexto é o uso de Antibióticos. Múltiplos ensaios clínicos randomizados falharam em demonstrar o seu benefício na prevenção do Parto pré-termo, quer em mulheres assintomáticas, quer em mulheres em Ameaça de Parto pré-termo com membranas intactas. Não parecem conseguir nem um prolongamento da gravidez nem uma melhoria do prognóstico fetal e/ou materno. De enfatizar que os vários ensaios clínicos realizados neste âmbito são heterogéneos, apresentando metodologias diversas e díspares: englobam mulheres de diferentes graus de risco, em diferentes idades gestacionais, utilizando diferentes Antibióticos e diferentes protocolos terapêuticos (diferente dosagem, via de administração e duração da terapêutica). A falta de homogeneidade não permite, assim, a tirada de conclusões seguras e definitivas. Sabe-se hoje, que os Antibióticos com potencial acção benéfica neste contexto deverão: ter um espectro de acção que cubra os microrganismos mais frequentemente implicados (diversos gram-negativos e anaeróbios), ser administrados precocemente (visto que precocemente se dá a colonização na gravidez e as alterações

inflamatórias dela consequentes) e por um tempo suficientemente prolongado para a erradicação microbiana. Apesar disso, não deveremos deixar de considerar os seus potenciais riscos e o facto de a presença de microrganismos não condicionar, *per se*, isoladamente, o despoletar do trabalho de parto. Evitar ou prevenir um trabalho de Parto pré-termo implica prevenir a Resposta Inflamatória anómala precocemente montada em resposta a um estímulo infeccioso. Assim, erradicar os microrganismos não erradicará a resposta inflamatória, em última instância responsável pelos mecanismos do trabalho de parto precoce. Paralelamente, a erradicação e destruição de microrganismos está associada, muitas vezes, à amplificação da Resposta Inflamatória, tendo assim um impacto mais prejudicial que benéfico. O controlo da Resposta Inflamatória deverá ser precoce, antes que a ela estejam associadas alterações bioquímicas e decíduais cuja implicação clínica é já irreversível.

Não menosprezando o potencial uso benéfico dos Antibióticos neste contexto, mais estudos serão necessários para a tirada de conclusões.

No que se refere ao uso de Anti-inflamatórios, vários fármacos têm sido propostos, com um potencial benefício teórico indiscutível e cujo valor prático está por determinar. Serão assim também aqui, necessários mais estudos, particularmente clínicos, para uma definição mais rigorosa do seu risco e segurança na gravidez.

Sabendo que no despoletar do Parto pré-termo de etiologia infecciosa, mais do que a presença de microrganismos na cavidade uterina estão envolvidas respostas inflamatórias materna e/ou fetal e que estas, sim, constituem o processo base para o desencadear do trabalho de parto e têm, por si só, um valor prognóstico neonatal importante, os fármacos desenhados, num futuro próximo, com um intuito profiláctico neste âmbito, deverão ter uma acção direccionada e específica para as várias vias e moléculas envolvidas nessas respostas, podendo assim a

profilaxia ser dirigida “à causa”. Desenhar tais fármacos implica um conhecimento profundo dos vários mecanismos Bioquímicos, Imunológicos e Genéticos envolvidos neste processo.

Dada a relevância clínica, económica e científica da problemática do Parto pré-termo, pela elevada morbimortalidade, elevados custos de saúde, grande complexidade biológica e crescente incidência mundial, urge a necessidade de delinear e amplificar os conhecimentos e medidas direccionadas para a sua resolução.

## Referências

- Andrews William W., Hauth John C., Goldenberg, Robert (2000) Infection and Preterm Birth. *American Journal of Perinatology*. 17(7):357-365
- Andrews WW, Hauth JC, Goldenberg RL (2000) Infection and Preterm Birth. *American Journal of Perinatology* 17 (7): 357-365.
- Anum EA, Hill LD, Pandya A, et al. (2009) Connective tissue and related disorders and preterm birth: clues to genes contributing to prematurity. *Placenta*;30:207–215.
- Baergen, R. F. (2011). In: *Manual of pathology of human placenta*. 2ª edição. Springer, Nova Iorque. Acedido em 2.19.11 no sítio:  
[http://books.google.com/books?id=bwmi0E3veosC&pg=PA284&lpg=PA284&dq=placental+infections+Pathology+chorioamnionitis+Bacteroides+Listeria+Clostridium&source=bl&ots=-y-k5m6-qC&sig=oSg006p447w6\\_BXfITZP\\_SAD9-U&hl=en&ei=oc1fTdTdOzJMe08QOv-bRa&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=1&ved=0CUBYQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com/books?id=bwmi0E3veosC&pg=PA284&lpg=PA284&dq=placental+infections+Pathology+chorioamnionitis+Bacteroides+Listeria+Clostridium&source=bl&ots=-y-k5m6-qC&sig=oSg006p447w6_BXfITZP_SAD9-U&hl=en&ei=oc1fTdTdOzJMe08QOv-bRa&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CUBYQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false).
- Balu B R, Savitz D A, Ananth C V, Hartmann K E, Miller W C, Thorp J M e Heine R P (2003) Bacterial Vaginosis, Vaginal Fluid Neutrophil Defensins and Preterm Birth. *Obstetrics & Gynecology*. Volume 101, Issue 5, Part 1: 862-868
- Barros Fernando C, Zuldiqar A B, Maneesh B, Thomas N H, César C V e Craig E R (2010) Global Reporto n preterm birth and stillbirth (3 of 7): evidence for effectiveness of interventions. *BMC Pregnancy and Childbirth* 10(1), S3: 1-36.
- Beck S, D Wojdyla, L Say , AP Betran, M Meriardi, J H Requejo, C Rubens, R Menon, PFA Van Look (2010) The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bulletin of the World Health Organization*;88:31-38.
- Bogavac MA, Brkic S (2009) Serum proinflammatory cytokine – interleukin-8 as possible infection site marker in preterm deliveries. *J. Perinat. Med.* 37: 707-708
- Bogges KA (2005) Pathophysiology of Preterm Birth: Emerging Concepts of Maternal Infection. *Clinics in Perinatology* 32: 561-569.
- Cassell, G. H., K. B. Waites, H. L. Watson, D. T. Crouse, and R. Harasawa. 1993. *Ureaplasma urealyticum* intrauterine infection: role in prematurity and disease in newborns. *Clin. Microbiol. Rev.* 1669-87.
- Chaiworapongsa T, Hong JS, Hull WM, Kim CJ, Gomez R, Mazor M, Romero R, Whitsett JA. (2008) The concentration of surfactant protein-A in amniotic fluid decreases in spontaneous human parturition at term. *J Matern Fetal Neonatal Med.* ; 21: 652-9.
- Chaiworapongsa T, Romero R, Espinoza J, Kim YM, Edwin S, Bujold E, Gomez R, Kuivaniemi H (2005) Macrophage migration inhibitory factor in patients with preterm parturition and microbial invasion of the amniotic cavity. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine* 18(6): 405-416.
- Chaiworapongsa T., Offer Erez, Juan Pedro Kusanovic, Edi Vaisbuch, Shali Mazaki-Tovi, Francesca Gotsch, Nandor Gabor Than, Pooja Mittal, Yeon Mee Kim, Natalia Camacho, Samuel Edwin, Ricardo Gomez, Sonia S Hassan, Roberto Romero (2008) Amniotic fluid heat shock protein 70 concentration in histologic chorioamnionitis, term and preterm parturition. *J Matern Fetal Neonatal Med.* Vol. 21-7-449-61.
- Chaiworapongsa T., Offer Erez, Juan Pedro Kusanovic, Edi Vaisbuch, Shali Mazaki-Tovi, Francesca Gotsch, Nandor Gabor Than, Pooja Mittal, Yeon Mee Kim, Natalia Camacho, Samuel Edwin, Ricardo Gomez, Sonia S Hassan, Roberto Romero (2008) Amniotic fluid heat shock protein 70 concentration in histologic chorioamnionitis, term and preterm parturition. *J Matern Fetal Neonatal Med.* Vol. 21-7-449-61.
- Chang K T E (2009) Review Article: Pathological examination of the placenta: Raison d'être, clinical relevance and medicolegal utility. *Singapore Med J*; 50(12) : 1123.

- Cobo T, Palacio M, Navarro-Sastre A, Ribes A, Bosch J, Filella X, Gratacós E (2009) Predictive value of combined amniotic fluid proteomic biomarkers and interleukin-6 in preterm labour with intact membranes. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 499.e1-499.e6.
- Daskalakis G, Thomakos N, Papapanagiotou A, Papantoniou N, Mesogitis S, Antsaklis A (2009) Amniotic fluid interleukin-18 at mid-trimester genetic amniocentesis: relationship to intraamniotic microbial invasion and preterm delivery. *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1743-1748.
- DiGirolio DB, Romero R, Amogan HP, Kusanovic JP, Bik EM, Gotsch F, Kim CJ, Erez O, Edwin S, Relman DA (2008) Microbial Prevalence, Diversity and Abundance in Amniotic Fluid During Preterm Labour: A Molecular and Culture-Based Investigation. *PLoS ONE* 3(8): e3056.
- Dodd JM, Crowther CA (2010) The role of progesterone in prevention of preterm birth. *Int J Womens Health*. Aug 9;1:73-84.
- Edwards RK (2005) Chorioamnionitis and Labor. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America* 32: 287-296.
- Fahey J. O. (2008) Clinical Management of Intra-Amniotic Infection and Chorioamnionitis: A Review of the Literature. *J. Midwifery & Women's Health*. Special Continuing Education Issue - Infectious Disease. Vol.53-3, 227-235.
- Fahey JO (2008) Clinical Management of Intra-Amniotic Infection and Chorioamnionitis: A Review of the Literature. *Journal of Midwifery & Women's Health* 53 (3): 227-235.
- Foglia LM, Ippolito DL, Stallings JD, Zelig CM, Napolitano PG (2010) Intramuscular 17 $\beta$ -hydroxyprogesterone caproate administration attenuates immunoresponsiveness of maternal peripheral blood mononuclear cells. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 561.e1-561.e5.
- Fox H. Sebire N. (2007). In: *Pathology of the Placenta. Major problems in pathology*. 3<sup>a</sup> edição. Saunders Elsevier Ed.. Acedido em 2.19.11 no sítio: [http://books.google.com/books?id=x8yz4I-vI04C&pg=PA304&lpg=PA304&dq=pathology+placenta+smell&source=bl&ots=FU3Ou4fBrU&sig=sTNY2w0Ac7IK8kzFet195-2lhzo&hl=en&ei=AclfTcC3FM218QPsovmDDA&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=3&ved=0CB8Q6AEwAg#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com/books?id=x8yz4I-vI04C&pg=PA304&lpg=PA304&dq=pathology+placenta+smell&source=bl&ots=FU3Ou4fBrU&sig=sTNY2w0Ac7IK8kzFet195-2lhzo&hl=en&ei=AclfTcC3FM218QPsovmDDA&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=3&ved=0CB8Q6AEwAg#v=onepage&q&f=false).
- Genç MR e Onderdonk A. (2011) Endogenous bacterial flora in pregnant women and the influence of maternal genetic variation. *BJOG* 118:154-163.
- Gibbs RS (2001) The Relationship Between Infections and Adverse Pregnancy Outcomes: An Overview. *Ann Periodontol* 6 (1) 153-163.
- Goldenberg RL (2003) The plausibility of micronutrient deficiency in relationship to perinatal infection. *J Nutr* 133:1737-40.
- Goldenberg RL, Andrews WW, Hauth JC (2002) Choriodecidual Infection and Preterm Birth. *Nutrition Reviews* 60(5): S19-S25.
- Goldenberg RL, Culhane Jannifer Flatow (2003) Infection as a cause of preterm birth. *Clinics in Perinatology* 30: 677-700.
- Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW (2000) Intrauterine Infection and Preterm Delivery. *The New England Journal of Medicine* 342 (20): 1500-1506.
- Goldenberg RL, Hauth Jc, Andrews WW. 2000. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med* 342:1500-7.
- Gómez LM, Sammel MD, Appleby DH, et al. (2010) Evidence of a gene-environment interaction that predisposes to spontaneous preterm birth: a role for asymptomatic bacterial vaginosis and DNA variants in genes that control the inflammatory response. *Am J Obstet Gynecol*;202:386.e1-6.

- Gomez-Lopez N, Laresgoiti-Servitje E, Olson DM, Estrada-Gutiérrez G, Vadillo-Ortega F (2010) The Role of Chemokines in Term and Premature Rupture of the Fetal Membranes: A Review. *Biol Repr* 82: 809-814.
- Gonçalves L.F., T.Chaiworapongsa, R.Romero (2002) Intrauterine infection and prematurity. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*. Vol8:1; 1–57
- Gonçalves LF, Chaiworapongsa T, Romero R (2002) Intrauterine Infection and Prematurity. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews* 8:3-13.
- Gravett MG, Novy MJ, Rosenfeld RG, Reddy AP, Jacob T, Turner M, McCormack A, Lapidus JA, Hitti J, Eschenbach DA, Roberts CT, Nagalla SR (2004) Diagnosis of Intra-amniotic Infection by Proteomic Profiling and Identification of Novel Biomarkers 292 (4) 462-469.
- Gravett MG, Thomas A, Schneider KA, Reddy AP, Dasari S, Jacob T, Lu X, Rodland M, Pereira L, Sadowsky DW, Roberts CT, Novy MJ, Nagalla SR (2007) Proteomic analysis of cervical-vaginal fluid identification of novel biomarkers for detection of intra-amniotic infection. *J Proteome Res* 6(1): 89-96.
- Grgic Gordana, Skokic F, Bogdanovic G (2010) C-reactive Protein as a Biochemical Marker of Idiopathic Preterm Delivery. *MED ARH* 64(3): 132-134.
- Gribsby PL, Novy MJ, Adams KM, Sadowsky DW, Gravett MG (2010) Choriodecidual Inflammation: A Harbinger of the Preterm Labor Syndrome. *SAGE*
- Gugino LJ, Buerger PT, Wactawski-Wende J, Fisher J. (1998) Chorioamnionitis: the association between clinical and histological diagnosis. *Prim Care Update Ob Gyns*; 5:148.
- Hasko G, Linden J, Cronstein B, Pacher P. (2008) Adenosine receptors: Therapeutic aspects for inflammatory and immune diseases. *Nat Rev Drug Discov.*;7(9):759–770.
- Heine RP, Wiesenfeld H, Mortimer L, Greig PC (1998) Amniotic Fluid Defensins: Potential Markers of Subclinical Intrauterine Infection. *Clinical Infectious Diseases* 27: 513-518.
- Hillier SL, Martius J, Krohn MA, Kiviat NB, Holmes KK, Eschenbach DA. A case-control study of chorioamnionic infection and histologic chorioamnionitis in prematurity. *N Engl J Med* 1988;319:972-978.
- Himes KP, Simhan HN (2008) Genetic Susceptibility to Infection-Mediated Preterm Birth. *Infectious Disease Clinics of North America* 22: 741-753.
- Hitti J, Lapidus JA, Lu X, Reddy AP, Jacob T, Dasari S, Eschenbach A, Gravett MG, Nagalla SR (2010) Noninvasive diagnosis of intraamniotic infection: proteomic biomarkers in vaginal fluid.
- Holst D, Garnier Y (2008) Preterm birth and inflammation – The role of genetic polymorphisms. *European Journal of Obstetrics and Reproductive Biology* 141: 3-9.
- Holst D, Garnier Y. (2008) Preterm birth and inflammation – The role of genetic polymorphisms. *European J. Obst & Gyn Rep Biol*141 3-9.
- Hutzal CE, Boyle EM, Kenyon SL, Nash JV, Winsor S, Taylor DJ, Kirpalani H (2008) Use of antibiotics for the treatment of preterm parturition and prevention of neonatal morbidity: a metaanalysis. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 620.e1-620-e7.
- Jacobsen B. M., S. A. Schittone, J. K. Richer, and K. B. Horwitz (2005) Progesterone-Independent Effects of Human Progesterone Receptors (PRs) in Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer: PR Isoform-Specific Gene Regulation and Tumor Biology. *Mol. Endocrinol.* 19, 574-587.
- Jacobsson B, Holst RM, Mattsby-Baltzer I, Nikolaitchouk N, Wennerholm UB, Hagberg H (2003) Interleukin-18 in cervical mucus and amniotic fluid: relationship to microbial invasion of the amniotic fluid, intra-amniotic inflammation and preterm delivery. *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 110: 598-603.

- Jalava, J., P. Kotilainen, S. Nikkari, M. Skurnik, E. Vanttinen, O.-P. Leh-tonen, E. Eerola, and P. Toivanen. (1995) Use of the polymerase chain reaction and DNA sequencing for detection of *Bartonella quintana* in the aortic valve of a patient with culture-negative infective endocarditis. *Clin. Infect. Dis.* 21:891–896.
- Jalava, J., M.-L. Mañntymaa, U. Ekblad, P. Toivanen, M. Skurnik, O. Lassila, and A. Alanen. 1996. Bacterial 16S rDNA polymerase chain reaction in the detection of intra-amniotic infection. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 103:664–669.
- Jelliffe-Pawlowski LL, Baer RJ, Currier RJ (2010) Second trimester serum predictors of preterm birth in a population-based sample of low-risk pregnancies. *Prenatal Diagnosis* 30: 727-733.
- Jones HE, Harris KA, Azizia M, Bank L, Carpenter B, Hartley JC, Klein N, Peebles D (2009) Differing Prevalence and Diversity of Bacterial Species in Fetal Membranes from Very Preterm and Term Labor. *PLoS ONE* 4(12): e8205.
- Kamel RM (2010) The onset of human parturition. *Arch Gynecol Obstet* 281: 975-982.
- Keelan JA (2010) Pharmacological inhibition of inflammatory pathways for the prevention of preterm birth. *Journal of Reproductive Immunology* 86(1): 15-16.
- Keeler SM, Keifer DG, Rust OA, Vintzileos A, Atlas RO, Bornstein E, Hanna N (2009) Comprehensive amniotic fluid cytokine profile evaluation in women with a short cervix: wich cytokine(s) correlates best with outcome? *Amercian Journal of Obstetrics & Gynecology* 276.e2-276.e6.
- Kenyon S , K Pike, Jones , P Brocklehurst, N Marlow , A Salt , DJ Taylor (2008). Childhood outcomes after prescription of antibiotics to pregnant women with preterm rupture of the membranes: 7-year follow-up of the ORACLE I trial. *The Lancet*, Vol.11 372- 9646, 1310 - 1318.
- Kenyon S, Boulvain M. (2003) Antibiotics for preterm premature rupture of membranes. In: *The Cochrane Library*, Issue 2, 2007. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Kenyon S, K Pike, Jones, P Brocklehurst N Marlow A Salt DJ Taylor (2008) Childhood outcomes after prescription of antibiotics to pregnant women with spontaneous preterm labour: 7-year follow-up of the ORACLE II trial. *The Lancet* – 11; 372;9646;1319-1327.
- Kim CJ, Romero R, Kusanovic JP, Yoo W, Dong Z, Topping V, Gotsch F, Yoon BH, Chi JG, Kim JS (2010). The frequency, clinical significance, and pathological features of chronic chorioamnionitis: a lesion associated with spontaneous preterm birth. *Mod Pathol.* Jul;23(7):1000-11.
- Kim MJ, Romero R, Kim CJ, Tarca AL, Chhauy S, et al. (2009) Villitis of unknown etiology is associated with a distinct pattern of chemokine up- regulation in the feto-maternal and placental compartments: implications for conjoint maternal allograft rejection and maternal anti-fetal graft-versus-host disease. *J Immunol* 182: 3919–3927.
- King J, Flenady V. (2007) Prophylactic antibiotic for inhibiting preterm labour with intact membranes. In: *The Cochrane Library*, Issue 2,. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- King JF, Flenady V, Cole S, Thornton S. Cyclo-oxygenase (COX) inhibitors for treating preterm labour (2005) *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 2.
- Koren G, A Florescu, AM Costei, R Boskovic, M E Moretti (2006) Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs During Third Trimester and the Risk of Premature Closure of the Ductus Arteriosus: A Meta-Analysis. *Ann Pharmacother.*; 40: 824-829.
- Kouchý M, Germanová A, Hájek Z, Parížek A, Kalousová M, Kopechý P (2009) Pathophysiology of Preterm Labour. *Prague Medical Report* Vol. 110 No.1 p.13-24.
- Labarrere CA, Faulk WP (1990) MHC class II reactivity of human villous trophoblast in chronic inflammation of unestablished etiology. *Transplantation*; 50:812-6.

- Lammont RF (2008) Antibiotics used in women at risk of preterm birth. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 199 (6) 583-584.
- Lang CT, Iams JD (2009) Goals and Strategies for Prevention of Preterm Birth: An Obstetric Perspective. *Pediatric Clin N Am* 56: 537-563.
- Lee J, Romero R, Xu Y, Kim J-S, Topping V, et al. (2011) A Signature of Maternal Anti-Fetal Rejection in Spontaneous Preterm Birth: Chronic Chorioamnionitis, Anti-Human Leukocyte Antigen Antibodies, and C4d. *PLoS ONE* 6(2): e16806.  
doi:10.1371/journal.pone.0016806. Acessado em 2/19/2011 no sítio:  
<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0016806>.
- Loudon JAZ, KM Groom, PR Bennett (2003) Prostaglandin inhibitors in preterm labour. *CL OBSTETR GYN*, 17, 5, 731-744.
- Macones GA, Parry S, Elkousy M, Clothier B, Ural SH, Strauss JF: (2004) A polymorphism in the promoter region of TNF and bacterial vaginosis: preliminary evidence of gene-environment interaction in the etiology of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 190(6):1504-1508.
- Meloni A, Melis M, Alba E, Deiana S, Atzei A, Paoletti AM, Capobianco G, Dessole S, Melis GB (2009) Medical therapy in the management of preterm birth. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine* 22(S3): 72-76.
- Menon R, Taylor RN, Fortunato SJ (2010) Chorioamnionitis – A complex pathophysiologic syndrome. *Elsevier* 31: 113-120.
- Myerson D, Parkin RK, Benirschke K, Tschetter CN, Hyde SR (2006) The pathogenesis of villitis of unknown etiology: analysis with a new conjoint immunohistochemistry-in situ hybridization procedure to identify specific maternal and fetal cells. *Pediatr Dev Pathol*; 9:257-65.
- Oggé G, Romero R, Lee DC, Gotsch F, Than NG, Lee J, Chaiworapongsa T, Dong Z, Mittal P, Hassan SS, Kim CJ (2011) Chronic chorioamnionitis displays distinct alterations of the amniotic fluid proteome. *Journal of Pathology* .
- Orsi NM, Tribe RM (2008) Cytokine Networks and the Regulation of Uterine Function in Pregnancy and Parturition. *Journal of Neuroendocrinology* 20: 462-469.
- Pacora P, Maymon E, Gervasi MT, Gomez R, Edwin SS, Yoon BH, Romero R. (2000). Lactoferrin in intrauterine infection, human parturition, and rupture of fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol*. Oct;183(4):904-10.
- Pararas MV, Skevaki CL, Kafetzis DA (2006) Preterm birth due to maternal infection: causative pathogens and modes of prevention. *Eur J Microbiol Infect Dis* 25: 562-569.
- Peebles D (2008). Antibiotic use and women in preterm labour. *BRIT J HOSP MED*, 69(11), 610 – 611.
- Peltier MR, Faux DS, Hamblin SD, Silver RM, Esplin MS (2010) Cytokine production by peripheral blood mononuclear cells of women with a history of preterm birth. *Journal of Reproductive Immunology* 84: 111-116.
- Peltier MR, Tee SC, Kinzler WL, Smulian JC (2009) Effect of Sulfasalazine on Basal and Bacteria-Stimulated Interleukin-8 Production by Endocervical Epithelial Cells. *American Journal Of Reproductive Immunology* 61: 190-195.
- Petraglia F, Visser GHA (2009) Prevention and management of preterm labour. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 22(S2): 24-30.
- Rac V.E., C.Small, C. A. Scott, S. L.Adamson, D. Rurak, J.R. Challis, S. J. Lye (2006) Meloxicam effectively inhibits preterm labor uterine contractions in a chronically catheterized pregnant sheep model: Impact on fetal blood flow and fetal-maternal physiologic parameters. *Amer J Obst Gynec*, 195, 2, 528-534.
- Redline RW, Patterson P. Villitis of unknown etiology is associated with major infiltration of fetal tissue by maternal inflammatory cells. *Am J Pathol* 1993; 143:473-9.

- Romero R, T. Chaiworapongsa and J. Espinoza (2003) Micronutrients and Intrauterine Infection, Preterm Birth and the Fetal Inflammatory Response Syndrome. *J. Nutr.* 133:1668S-1673S.
- Romero R, Chaiworapongsa T, Kuivaniemi H, Tromp G (2004) Bacterial vaginosis, the inflammatory response and the risk of preterm birth: a role for genetic epidemiology in the prevention of preterm birth. *Am J Obst Gyn*190(6):1509-19.
- Romero R, Espinoza J, Chaiworapongsa T, Kalache K (2002) Infection and prematurity and the role of preventive strategies. *Semin Neonatol* 7: 259-274.
- Romero R, Espinoza J, Rogers WT, Moser A, Nien JK, Kusanovic JP, Gotsch F, Erez O, Gomez R, Edwin S, Hassan SS (2008) Proteomic Analysis of Amniotic Fluid to Identify Women with Preterm Labor and Intra-amniotic Inflammation/Infection: The Use of a Novel Computational Method to Analyze Mass Spectrometric Profiling. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 21(6): 367-388.
- Romero R, Gómez R, Chaiworapongsa T, Conoscenti G, Kim JC, Kim YM (2001) The role of infection in preterm labour and delivery. Blackwell Science Ltd. *Paediatric and Perinatal Epidemiology* 15: 41-56.
- Romero R, Velez Edwards DR, Kusanovic JP, Hassan SS, Mazaki-Tovi S, Vaisbuch E, Kim CJ, Chaiworapongsa T, Pearce BD, Friel LA, Bartlett J, Anant MK, Salisbury BA, Vovis GF, Lee MS, Gomez R, Behnke E, Oyarzun E, Tromp G, Williams SM, Menon R. (2010) Identification of fetal and maternal single nucleotide polymorphisms in candidate genes that predispose to spontaneous preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.*;202:431:e1-34.
- Romero R, Velez Edwards DR, Kusanovic JP, Hassan SS, Mazaki-Tovi S, Vaisbuch E, Kim CJ, Chaiworapongsa T, Pearce BD, Friel LA, Bartlett J, Anant MK, Salisbury BA, Vovis GF, Lee MS, Gomez R, Behnke E, Oyarzun E, Tromp G, Williams SM, Menon R. (2010) Identification of fetal and maternal single nucleotide polymorphisms in candidate genes that predispose to spontaneous preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.*;202:431:e1-34.
- Russell P (1980) Inflammatory lesions of the human placenta. III. The histopathology of villitis of unknown aetiology. *Placenta*; 1:227-44.
- Saji F, Samejima Y, Kamiura S, Sawai K, Shimoya K, Kimura T (2000) Cytokine production in chorioamnionitis. *Journal of Reproductive Immunology* 47: 185-196.
- Shahin AY, Hassanin IM, Ismail AM, Kruessel JS, Hirchenhain J. (2009) Effect of oral N-acetyl cysteine on recurrent preterm labor following treatment for bacterial vaginosis. *Int J Gynaecol Obstet.* Jan;104(1):44-8.
- Simcox R, Sin WT, Seed PT, et al. (2007) Prophylactic antibiotics for the prevention of preterm birth in women at risk: a meta-analysis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 47:368-377.
- Smith V, Devane D, Begley CM, Clarke M, Higgins S (2009) A systematic review and quality assesment of systematic reviews of randomised trials of interventions for preventing and treating preterm birth. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 142: 3-11.
- Smulian JC, Shen-Schwarz S, Vintzileos AM, Lake MF, Ananth CV. (1999) Clinical chorioamnionitis and histologic placental inflammation. *Obstet Gynecol*; 94:1000-5.
- Smulian JC, Shen-Schwarz S, Vintzileos AM, Lake MF, Ananth CV. (1999) Clinical chorioamnionitis and histologic placental inflammation. *Obstet Gynecol* 94(6):1000-5.
- Sorokin Y, Romero R, Mele L, Wapner RJ, Iams JD, Dudley DJ, Spong CY, Peaceman AM, Leveno KJ, Harper M, Caritis SN, Miodovnik M, Mercer BM, Thorp JM, O'Sullivan MJ, Ramin SM, Carpenter MW, Rouse DJ, Sibai B, Shriver EK (2010) Maternal serum

- interleukin-6, C-reactive protein and matrix metalloproteinase-9 concentration as risk factors for preterm birth < 32 weeks and adverse neonatal outcomes. *Am J Perinatal* 27(8): 631-640.
- Sweet R.L. e R.S. Gibbs. 2001. *Infectious Diseases of the Female Genital Tract*. Pub: Lippincott Williams and Wilkins..
- Tita A, Andrews WW (2010) Diagnosis and Management of Clinical Chorioamnionitis. *Clin Perinatol* 37: 339-354.
- Underwood MA, Gilbert WM, Sherman MP (2005) Amniotic fluid: not just fetal urine anymore. *J Perinatol*. May;25(5):341-8.
- Vermillion ST, Robinson CJ (2005) Antiprostaglandin Drugs. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America* 32: 501-517.
- Wu HC, Shen CM, Wu YY, Yuh YS, Kua KE (2009) Subclinical Histologic Chorioamnionitis and Related Clinical and Laboratory Parameters in Preterm Deliveries. *Pediatr Neonatol* 50(5): 217-221.
- Yang Q, El-Sayed Y, Rosenberg-Hasson Y, Hirschberg DL, Nayak NR, Schilling J, Madan A (2009) Multiple Cytokine Profile in Plasma and Amniotic Fluid in a Mouse model of Preterm Labor. *American Journal of Reproductive Immunology* 62: 339-347.