

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina

Maria Fernanda Brandão de Resende Guimarães

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL EM
GESTANTES PORTADORAS DE PRÉ-ECLÂMPSIA E
DIABETES MELLITUS GESTACIONAL ATRAVÉS DA
DILATAÇÃO FLUXO-MEDIADA DA ARTÉRIA
BRAQUIAL**

Belo Horizonte

2011

Maria Fernanda Brandão de Resende Guimarães

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL EM
GESTANTES PORTADORAS DE PRÉ-ECLÂMPSIA E
DIABETES MELLITUS GESTACIONAL ATRAVÉS DA
DILATAÇÃO FLUXO-MEDIADA DA ARTÉRIA
BRAQUIAL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção de título de Mestre em Saúde da Mulher.

Área de concentração: Perinatologia.

Orientador: Prof. Dr. Cezar Alencar de Lima Rezende

Belo Horizonte
2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Prof. Clélio Campolina Diniz
Vice-Reitora: Profa. Rocksane de Carvalho Norton
Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Ricardo Santiago Gomez
Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Renato Lima dos Santos

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Prof. Francisco José Penna
Vice-Diretor: Prof. Tarcizo Afonso Nunes.
Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha
Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação: Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari
Chefe do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia: Prof. Cezar Alencar de Lima Rezende

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER
Área de Concentração em Perinatologia

Coordenador: Prof. Antônio Carlos Vieira Cabral
Subcoordenadora: Profa. Alamanda Kfoury Pereira

Colegiado

Prof. Antônio Carlos Vieira Cabral
Profa. Alamanda Kfoury Pereira
Prof. Selmo Geber
Prof. Victor Hugo de Melo
Gabriel Costa Ozanan – Representante Discente

FICHA CATALOGRÁFICA

Ao Henrique,
razão maior da minha vida
e ao Lucas que logo
trará ainda mais alegria
para nossa família.

Ao Daniel,
meu amor e companheiro
de todos os momentos.

Aos meus pais,
Alice e José, exemplos
de homens e médicos.

AGRADECIMENTOS

Meu agradecimento inicial não poderia deixar de ser ao Prof. Dr. Antônio Carlos Vieira Cabral que sempre manteve abertas as portas do Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG, viabilizando esse estudo. Além disso, o Prof. Cabral foi um amigo que apoiou não só a mim como também à minha família em momentos de angústia.

Ao Prof. Dr. Cezar Alencar de Lima Rezende pela disponibilidade e pelas sábias orientações.

Ao Dr. Augusto Henriques Fulgêncio Brandão, por toda sua generosidade, ajuda, conselhos e por todo o esforço que foi essencial para que esse trabalho se concretizasse.

Ao Daniel que sempre me deu forças apesar dos momentos de ausência que são necessários para alcançar nossos objetivos.

Ao Henrique por tornar nossas vidas cada dia mais feliz.

Aos meus pais pelo apoio incondicional demonstrado durante toda minha vida e por serem os grandes responsáveis por minha formação médica.

Aos meus irmãos pela amizade e por serem os melhores tios que os meus filhos poderiam ter.

Morre lentamente quem não vira a mesa quando
está infeliz com o seu trabalho, quem não arrisca o
certo pelo incerto para ir atrás de um sonho, quem
não se permite pelo menos uma vez na vida a fugir
dos conselhos sensatos.

Pablo Neruda

RESUMO

Introdução: apesar dos diversos avanços já alcançados e relacionados ao diagnóstico e ao tratamento das doenças típicas da gestação, a Pré-eclâmpsia (PE) e o *Diabetes Mellitus* Gestacional (DMG) ainda são responsáveis por grande número de mortes maternas e fetais além das diversas consequências não fatais. Sabe-se que a lesão endotelial é ponto central na fisiopatologia de ambas as doenças, caracterizada por uma menor produção e ação do óxido nítrico no endotélio vascular. A Dilatação Fluxo-mediada (FMD) é um método de avaliação da função endotelial em humanos, sendo atrativo por ser não-invasivo e com bons resultados já publicados. **Objetivos:** o objetivo desse estudo é comparar a função endotelial, avaliada pela FMD, em gestantes portadoras de PE, DMG e gestantes saudáveis.

Pacientes e Método: oitenta gestantes foram selecionadas e divididas em três grupos: Grupo A: composto por 42 gestantes portadoras de PE, Grupo B (controle): composto por 19 gestantes normotensas sem comorbidades e Grupo C: composto por 19 gestantes portadoras de DMG. As gestantes foram submetidas à FMD da artéria braquial e os resultados entre os grupos foram comparados. **Resultados:** a análise de variância não-paramétrica demonstrou haver diferença estatisticamente significativa da FMD entre os grupos ($p=0,00$). No teste de Dunn, demonstrou-se que o grupo controle (média de FMD = $17,55\pm 8,35\%$) difere dos demais, pois os cruzamentos dele com os grupos de portadoras de PE (FMD= $5,36\pm 4,61\%$; $p<0,05$) e DMG (FMD= $9,18\pm 5,98\%$; $p<0,05$) foram estatisticamente significativos, apresentando maiores valores no teste da FMD. Já o cruzamento entre os grupos PE x DMG não apresentou significância estatística. O grupo constituído por gestantes portadoras de DMG ou PE possui resultados de FMD significativamente menores que o grupo controle ($6,55\pm 5,33\%$; $17,55\pm 8,35\%$; $p=0,00$). **Conclusão:** os menores valores de FMD nos grupos de gestantes portadoras de PE e DMG sugerem lesão endotelial nessas pacientes.

Palavras-chave: Pré-eclâmpsia, *Diabetes Mellitus* Gestacional, Dilatação fluxo-mediada

ABSTRACT

Background: Although several advances have already been achieved in to the diagnosis and treatment of typical diseases of gestation, Preeclampsia (PE) and Gestational Mellitus Diabetes (GMD) are still responsible for a large number of fetal and maternal mortality and morbidity. It is known that endothelial injury plays a key role on the pathophysiology of both diseases, characterized by a lower production and action of nitric oxide on vascular endothelium. The flow-mediated dilation (FMD) is a method of endothelial function's evaluation in humans, being attractive for being non-invasive and with good results already published. **Objectives:** to compare the endothelial function, evaluated by FMD, in pregnant women with PE, GMD and healthy pregnant women. **Patients and Methods:** Eighty pregnant women were selected and divided into three groups: Group A: 42 pregnant women with PE, Group B (control): composed of 19 healthy pregnant women and Group C: composed of 19 pregnant women with GMD. FMD test was performed in all patients and the results between the groups were compared. **Results:** the analysis of variance non-parametric analysis of variance showed difference between groups of FMD ($p = 0.00$). Dunn test showed that the control group (average of FMD = $17.55 \pm 8.35\%$) has higher values of FMD than the PE group (FMD = $5.36 \pm 4.61\%$; $p = 0.05$) and GMD group (FMD = $9.18 \pm 5.98\%$; $p < 0.05$). The comparison between the groups PE x GMD did not provide statistical difference. The Group composed of pregnant women with GMD or PE has lower results of FMD than the control group ($6.55 \pm 5.33\%$; $17.55 \pm 8.35\%$; $p = 0.00$).

Conclusion: the lower values of FMD in groups of pregnant women with PE and GMD suggest endothelial injury in these patients.

Keywords: Preeclampsia, Gestational Mellitus Diabetes, Flow-mediated dilation

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1 –Mecanismos envolvidos no desenvolvimento da pré-eclâmpsia.
Cortesia do Dr. Augusto Brandão.....28
- FIGURA 2 – Teste da Dilatação Fluxo-mediada (FMD) da artéria braquial
Cortesia do Dr. Augusto Brandão.....35
- FIGURA 3 – Demonstração dos diâmetros da artéria braquial antes e após a compressão exercida pelo manguito do esfigmomanômetro (Dilatação Fluxo-mediada da artéria braquial) em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia (PE), *diabetes mellitus* gestacional (DMG), e em gestantes sem intercorrências (controle) utilizando-se aparelho de ultra-sonografia com *Doppler* colorido.47
- FIGURA 4– Porcentagens de teste normal x teste alterado da avaliação dos diâmetros da artéria braquial antes e após a compressão exercida pelo manguito do esfigmomanômetro (Dilatação Fluxo-mediada da artéria braquial) em gestantes portadoras de lesão endotelial presumida (PE mais DMG) comparadas com gestantes sem intercorrências (controle) utilizando-se aparelho de ultra-sonografia com *Doppler* colorido.....52

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Caracterização da amostra segundo grupo de causas à admissão na Maternidade do HC - UFMG, no período de julho de 2008 a agosto de 2009	42
TABELA 2 – Avaliação dos diâmetros da artéria braquial antes e após a compressão exercida pelo manguito do esfigmomanômetro (Dilatação Fluxo-mediada da artéria braquial) em gestantes portadoras de pré-eclampsia, <i>diabetes mellitus</i> gestacional e gestantes sem intercorrências utilizando-se aparelho de ultra-sonografia com <i>Doppler</i> colorido (mm).....	46
TABELA 3 – Resultados da comparação da Dilatação Fluxo-mediada (FMD) da artéria braquial entre os grupos de gestantes portadoras de pré-eclampsia e de gestantes sem intercorrências (controle).....	48
TABELA 4 – Resultados da comparação dos valores de Dilatação Fluxo- mediada (FMD) da artéria braquial entre os grupos de gestantes portadoras de <i>diabetes mellitus</i> gestacional e de gestantes sem intercorrências (controle)	48
TABELA 5 – Comparação dos resultados da Dilatação Fluxo- mediada (FMD) da artéria braquial entre os grupos de pré-eclampsia e de <i>diabetes mellitus</i> gestacional	49
TABELA 6 – Resultados dos testes de comparação entre as médias dos valores de Dilatação Fluxo-mediada da artéria braquial entre os grupos de gestantes portadoras de pré-eclampsia (PE), de <i>diabetes mellitus</i> gestacional (DMG) e de gestantes sem intercorrências (controle).....	50
TABELA 7 – Comparações entre os grupos de acordo com a variável média dos valores de Dilatação Fluxo-mediada da artéria braquial em gestantes portadoras de pré-eclampsia, <i>diabetes mellitus</i> gestacional e gestantes sem intercorrências (controle).	50

- TABELA 8 – Avaliação dos diâmetros da artéria braquial antes e após a compressão exercida pelo manguito do esfigmomanômetro (Dilatação Fluxo-mediada da artéria braquial) em gestantes portadoras de pré-eclampsia e de *diabetes mellitus* gestacional versus gestantes sem intercorrências (controle) utilizando-se aparelho de ultra-sonografia com *Doppler* colorido. 51
- TABELA 9 – Resultados dos testes de comparação entre os grupos controle versus grupo de pacientes com pré-eclampsia (PE) e pacientes com *diabetes mellitus* gestacional (DMG) associados..... 53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMPc	Monofosfato de adenosina cíclico
ANCA	Anticorpo anticitoplasma de neutrófilos
ANG II	Angiotensina II
Ca ²⁺	Cálcio
CECs	Células endoteliais circulantes
cNOs	Óxido nítrico <i>sintetase</i> dependente do cálcio
DMG	<i>Diabetes mellitus</i> gestacional
DM II	<i>Diabetes mellitus</i> tipo II
EDHF	Fator hiperpolarizante dependente do endotélio
ENTs	Transportadores nucleosídeos equilibrativos
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ET	Endotelina
ET-1	Endotelina 1
ET-2	Endotelina 2
ET-3	Endotelina 3
FasL	Fas-ligante
FM	Faculdade de Medicina
FMD	Dilatação fluxo mediada (do inglês: <i>Flow mediated dilatation</i>)
FvW	Fator de von Willebrand
GMPc	Guanosina monofosfato cíclico
HC UFMG	Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais
HELLP	<i>Haemolysis, elevated liver enzymes, low platelet counts</i>
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
ICAM-1	Molécula de adesão intracelular
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
iNOs	Óxido nítrico <i>sintetase</i> independente do cálcio
K ⁺	Potássio
LAM	Molécula de adesão leucocitária
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo-P

NO	Óxido nítrico
NOs	Óxido nítrico sintetase
O ₂	Oxigênio
ONOO	Peroxinitrito
PAI-1	Inibidor de plasminogênio ativado-1
PE	Pré-eclampsia
PGI ₂	Prostaciclina
PGH ₂	Prostaglandina H ₂
PKA	Proteinocinase dependente do monofosfato de adenosina cíclico
PIGF	Fator de crescimento placentário
sEng	Endoglina solúvel
sFlt-1	Formas solúveis circulantes de tirosina quinase 1
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
TGFβ	Fator de crescimento transformante β
TNFα	Fator de necrose tumoral α
t-PA	Ativador do plasminogênio tecidual
TXA ²	Tromboxano A ²
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VCAM-1	Molécula de adesão vascular
VEGF	Fator de Crescimento Vascular Endotelial

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	14
2 - REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 – FUNÇÃO ENDOTELIAL.....	17
2.2 – ENDOTÉLIO E GRAVIDEZ.....	21
2.3 – O ENDOTÉLIO E A PRÉ-ECLÂMPsia (PE).....	24
2.4 – O ENDOTÉLIO E O <i>DIABETES MELLITUS</i> GESTACIONAL.....	28
2.5 – MÉTODOS DE AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DO ENDOTÉLIO	31
2.6 – DILATAÇÃO FLUXO-MEDIADA DA ARTÉRIA BRAQUIAL.....	34
3 – OBJETIVOS	40
4 – PACIENTES E MÉTODO	41
4.1 – PACIENTES.....	41
4.2 – MÉTODO	42
4.2.1 – Método Estatístico	44
5 – RESULTADOS	46
5-1 –RESULTADOS- FORMA CATEGORIZADA	46
5.2 –RESULTADOS- FORMA CONTÍNUA.....	49
5.3 - RESULTADOS- CONTROLE X LESÃO ENDOTELIAL (PE E DMG)	51
5.3.1 – Resultados- Controle x Lesão endotelial (PE mais DMG)- Forma Categorizada.....	52
5.3.2 – Resultados- Controle xLesão endotelial (PE e DMG)- Forma Contínua	53
6 – DISCUSSÃO	54
7 – CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS	62
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	70
APÊNDICE B – Banco de dados.....	72

1 INTRODUÇÃO

A gestação é caracterizada por uma série de mudanças fisiológicas, e qualquer desarranjo no equilíbrio esperado entre a mãe e o feto pode ser responsável por um desfecho desfavorável. Apesar dos diversos avanços relacionados ao diagnóstico e ao tratamento das doenças típicas da gestação, a pré-eclâmpsia (PE) e o *diabetes mellitus* gestacional (DMG) ainda são responsáveis por grande número de mortes maternas e fetais e por diversas outras consequências não fatais.

É constante a busca pelo diagnóstico em fases cada vez mais iniciais, na expectativa de que um diagnóstico precoce possa mudar o curso dessas doenças.

A literatura mostra que o endotélio é normalmente modificado ou lesado em consequência de diversas doenças, como na hipertensão arterial, nas doenças cardiovasculares, nas doenças metabólicas, por exemplo, o diabetes, no hipotireoidismo e nas doenças reumáticas. A lesão endotelial é hoje considerada ponto central na fisiopatologia de diversos males que acometem a gestante.

Sabe-se que, em pacientes portadoras de PE, ocorre uma resposta inflamatória com uma invasão trofoblástica deficiente e lesão do endotélio de maneira sistêmica, manifestando-se clinicamente como hipertensão, proteinúria e lesão de órgãos-alvo. Por sua vez, a resistência periférica à insulina, em pacientes portadoras de DMG, é sabidamente uma condição que gera lesão de endotélio por reduzir a atividade da enzima NO sintetase (NOs), presente no endotélio vascular, que sintetiza o óxido nítrico (NO). Esse comprometimento endotelial na PE e no DMG já está bem definido e, apesar de existirem diversas formas de avaliar lesão de endotélio, nenhum método isoladamente é suficiente para identificar essa disfunção. Estudar pacientes com PE e com DMG pode ser o caminho mais indicado na procura de um diagnóstico mais precoce dessas doenças.

A avaliação do endotélio pode ser feita de várias formas, como, por exemplo, através das dosagens de marcadores. No entanto, até hoje, esses métodos permanecem dispendiosos e apresentam uma acurácia questionável, o que impede sua implantação como uma rotina no pré-natal de pacientes com risco de lesão

endotelial. Um teste não invasivo, acessível, de baixo custo e eficaz seria o ideal para o diagnóstico de lesão endotelial.

A dilatação fluxo-mediada (do inglês: *flow-mediated dilatation* – FMD), que utiliza a ultrassonografia para verificar a vasodilatação de uma determinada artéria diante de um estímulo, é uma técnica não invasiva, de baixo custo e com bons resultados já publicados. No entanto, precisa ser mais bem padronizada, e os resultados em algumas doenças específicas necessitam de melhor interpretação para que seu possível emprego na prática clínica seja definido. Atualmente, o uso da FMD encontra-se, ainda, restrito à pesquisa, apesar de sua aplicabilidade ser promissora.

Já existem vários estudos publicados, como o de Dørup, Skajaa e Sørensen (1999) e de Quinton, Cook e Peek (2007), que avaliaram as diferenças dos resultados da FMD durante a gestação normal. Também já foram avaliadas pacientes com PE, e os resultados mostraram uma diminuição da dilatação da artéria braquial quando comparados com os de um grupo-controle (YOSHIDA et al., 2000; BRANDÃO et al., 2011). Em relação ao DMG, não foi encontrada na literatura pesquisada nenhum estudo que realizasse a FMD durante a gestação, apesar de já terem sido avaliadas pacientes com passado de DMG.

Isoladamente, tanto a PE como o DMG já foram temas de importantes teses do Programa de Saúde da Mulher da Faculdade de Medicina (FM) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), mas existe certa escassez de estudos que trabalhem com ambos os temas simultaneamente. Tendo em vista ser a lesão endotelial um marco fisiopatológico nas duas doenças, o uso do FMD torna-se uma ferramenta interessante para comparar dois diferentes mecanismos de lesão de endotélio.

O Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG vem-se empenhando no estudo da FMD e buscando uma padronização dessa técnica. No Centro de Pesquisa da Universidade, desde 2008, o exame é realizado em aproximadamente dez estudos: numa tese de doutorado, em quatro teses de mestrado e num grande ensaio clínico desenvolvido em parceria com o Instituto de Ciências Biológicas (ICB). Além disso, duas teses de doutorado, na Linha de Pesquisa do Climatério, também utilizam o teste como parâmetro para avaliação da resposta endotelial a diferentes tipos de terapia hormonal.

O presente estudo, que se propõe avaliar o endotélio, despertou interesse, já que cada vez mais se observa a participação da lesão endotelial em diversas doenças, inclusive nas doenças reumáticas, que fazem parte da nossa prática diária. Entender um pouco mais do endotélio será de grande valia, e a consolidação de um teste que avalie bem essa disfunção é um anseio de todas as áreas da Medicina.

A falta de dados publicados sobre a FMD durante gestações com DMG, a possibilidade de comparar grupos com PE, DMG e controles e a busca da consolidação da FMD como uma boa técnica de identificação de lesão endotelial motivaram a realização do presente estudo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 FUNÇÃO ENDOTELIAL

O endotélio vascular, camada monocelular que reveste a superfície luminal de todos os vasos sanguíneos, constitui uma interface, estrategicamente situada entre a circulação e o restante da parede vascular. Local ativo de síntese, o endotélio pode ser considerado um verdadeiro sistema autócrino, parácrino e endócrino do organismo, que responde a vários estímulos, produzindo e secretando um grande número de compostos metabolicamente ativos, além de modular ou inibir os efeitos de substâncias circulantes (CALLOW, 1999; BATLOUNI, 2001).

O papel do endotélio é crucial na homeostase vascular, já que é ele que regula ativamente o tônus e a permeabilidade dos vasos sanguíneos. Além disso, realiza uma série de funções, como o balanço entre a coagulação e a fibrinólise, participa da atividade inflamatória e da proliferação celular e influencia a função de outros tipos celulares, como as células musculares lisas dos vasos, plaquetas, leucócitos, células mesangiais renais e macrófagos, entre outros (DE CATERINA, 2000; CARVALHO et al., 2001; BATLOUNI, 2001; GRANGER et al., 2002; VAN DEN OEVER et al., 2010).

O endotélio controla o tônus da musculatura lisa vascular pela produção de mediadores que podem provocar vasodilatação ou vasoconstrição (CARVALHO et al., 2001). Os principais fatores relaxantes e antiplaquetários derivados do endotélio são o NO, a prostaciclina (PGI₂) e o fator hiperpolarizante dependente do endotélio (EDHF). Quanto às substâncias vasoconstritoras e ativadoras da agregação plaquetária podem-se citar: endotelina-1 (ET-1), angiotensina-II (ANG-II), os endoperóxidos (prostaglandina H₂ e tromboxano A₂), leucotrienos e espécies reativas de oxigênio (EROs) (COHEN, 1995; QUYYUMI, 1998; PUDDU et al., 2000; BATLOUNI, 2001; CARVALHO et al., 2001).

Nas funções de vasomotricidade, deve-se salientar que o endotélio funciona como receptor-modulador de substâncias vasoativas envolvidas na agregação plaquetária e na coagulação. Tais substâncias são a acetilcolina, a serotonina, a trombina, os nucleotídeos da adenosina, a vasopressina e o ácido araquidônico. O

endotélio também participa do metabolismo e da inativação de catecolaminas e serotonina, ANG-II e de outros produtos plaquetários (BATLOUNI, 2001).

Também ocorre produção, pelas células endoteliais, de outros fatores importantes, como ativador do plasminogênio tecidual (t-PA), inibidor de plasminogênio ativado-1 (PAI-1), fator de von Willebrand (FvW), molécula de adesão leucocitária (LAM), molécula de adesão intracelular (ICAM-1), molécula de adesão vascular (VCAM-1) e citocinas, dentre eles o fator de necrose tumoral α (TNF α) (VAN DEN OEVER et al., 2010).

Apesar do conhecimento das inúmeras funções do endotélio, será ressaltado aqui o importante efeito regulador do tônus vascular que responde prontamente às alterações hemodinâmicas, regulando o fluxo sanguíneo e a perfusão tecidual, em condições tanto fisiológicas como patológicas. As substâncias vasodilatadoras e vasoconstritoras agem em conjunto para mediar o tônus vascular e a atividade plaquetária, lembrando que, em condições fisiológicas, ocorre predomínio dos fatores relaxantes (CALLOW, 1999; BATLOUNI, 2001).

O NO é, sem dúvida, um dos mais importantes mediadores, devido à sua ação vasodilatadora, antiplaquetária, antiproliferativa, anti-inflamatória, antioxidante, e à diminuição de permeabilidade. Trata-se de um radical livre, cuja síntese se realiza por ação de uma enzima, a NOs, a partir do aminoácido L-arginina, que produz NO e L-citrulina, necessitando da presença de dois cofatores, o oxigênio e o fosfato dinucleótido adenina nicotinamida (NADPH) (PUDDU et al., 2000; CARVALHO et al., 2001; VAN DEN OEVER et al., 2010).

O NO é produzido por uma ampla variedade de tipos celulares além das células endoteliais, que incluem células epiteliais, nervosas e inflamatórias. Existem três formas de NOs, duas denominadas constitutivas e dependentes do cálcio (cNOs), que são a endotelial e a neuronal, as quais sintetizam NO em condições normais, e a independente do cálcio (iNOs), que é induzida por estímulos imunológicos e pode ser ativada por processos inflamatórios (PUDDU et al., 2000).³ No endotélio, o aumento do cálcio livre intracelular parece ser o principal estímulo para a ativação da cNOs. Portanto, situações nas quais há um aumento do cálcio livre, levam ao aumento da produção de NO (QUYYUMI, 1998).

Agindo como um mensageiro biológico, o NO difunde-se através do espaço extracelular até as células musculares lisas e atua induzindo a guanil-ciclase, que produz guanosinamonofosfato cíclico (GMPc), que tem, entre outros efeitos, o de relaxamento do músculo liso, o que provoca a vasodilatação e garante a perfusão tecidual (QUYYUMI, 1998; PUDDU et al., 2000). Além disso, o NO exerce uma série de funções que incluem a inibição da adesão leucocitária ao endotélio vascular, a inibição da agregação plaquetária e de neutrófilos e a supressão da degranulação de mastócitos (PUDDU et al., 2000).

Em alguns modelos animais e em pacientes com doenças vasculares nota-se uma diminuição no relaxamento dependente do endotélio em artérias isoladas, ou uma diminuição da vasodilatação *in vivo* mediada por vasodilatadores endotélio-dependentes. Com poucas exceções, foram percebidas respostas normais a vasodilatadores à base de nitratos, pelo menos em estágios iniciais de disfunção endotelial. Uma vez que o NO é considerado o vasodilatador endotelial primário, diante da resposta ao uso de vasodilatadores que agem analogamente ao NO, foi feita a interpretação de que, nas doenças com disfunção endotelial, há diminuição na ação de NO (COHEN, 1995).

O EDHF, como já citado, é outra substância vasodilatadora produzida pelo endotélio que tem importante papel na regulação do tônus vascular. Sua natureza química e o mecanismo de ação nas células musculares lisas não foram completamente elucidados. Os mecanismos propostos para explicar o efeito vasodilatador do EDHF envolvem a ativação dos canais de potássio (K^+) e a indução de hiperpolarização das células musculares lisas. Isso resulta no fechamento dos canais de cálcio (Ca^{2+}) seguido do relaxamento. É citado também que a hiperpolarização dependente do endotélio pode ocorrer através da combinação de transmissão elétrica com a transmissão química já descrita (BATLOUNI, 2001; LUKSHA; NISELL; KUBLICKIENE, 2004).

A PGI 2 é um prostanoide derivado do ácido araquidônico. A metabolização desse ácido resulta na síntese de prostaglandina H2 (PGH2). A partir desse precursor, são gerados todos os prostanoides, inclusive as prostaglandina E2, D2, I2 (prostaciclina), F2 α e o tromboxano A2 (TXA2). A estimulação dos receptores de prostaciclina nas células musculares lisas provoca ativação da adenilatociclase, induzindo aumento do monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) e estimulação da

proteinocinase dependente do AMPc (PKA) na musculatura lisa vascular. A PKA causa a saída de Ca^{2+} do citosol e inibe a maquinaria contrátil. A contribuição da prostaciclina à vasodilatação dependente do endotélio é usualmente pequena. De outra parte, pequenas quantidades de prostanoídes vasoconstritores, como PGH₂ e TXA₂, são também formadas. Porém, em condições fisiológicas, seus efeitos são inibidos pelo efeito vasodilatador da prostaciclina, do NO e do EDHF (BATLOUNI, 2001).

Endotelinas (ET) são peptídeos de 21 aminoácidos produzidos por vários tecidos. São conhecidas três isoformas denominadas ET-1, ET-2 e ET-3. O endotélio vascular produz somente a ET-1 (BATLOUNI, 2001). A ET atua em receptores específicos da célula muscular lisa vascular e ativa canais de cálcio dependentes de voltagem por meio de proteínas G. Essa ativação promove despolarização da membrana plasmática, aumento da concentração intracelular de cálcio, contração vascular, liberação de fatores endoteliais, síntese de DNA e crescimento celular. A ET-1 é o mais potente vasoconstritor descrito até o momento, tanto em vasos de maior calibre, quanto na microcirculação (BATLOUNI, 2001; CARVALHO et al., 2001).

O termo EROs é usado para designar radicais livres derivados do oxigênio e intermediários relacionados como peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Os EROs são liberados pelas células endoteliais e aumentam o tônus vascular, uma vez que eles facilitam a mobilização de cálcio citosólico no músculo liso vascular e promovem aumento na sensibilidade das proteínas contráteis ao cálcio (SUZUKI; FORD, 1992; SHIMIZU et al., 1994). Em condições de estresse oxidativo, quantidades significativas de oxigênio (O_2) reagem com o NO para formar peroxinitrito (ONOO), que atua como radical livre. Em consequência, ocorre a diminuição da biodisponibilidade de NO endotelial e de seu efeito vasodilatador e manifesta-se o efeito vasoconstritor do O_2 e os efeitos deletérios do ONOO (BATLOUNI, 2001).

O sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) desempenha importante função na regulação da pressão arterial e na manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico. A ANG-II atua como principal mediador do SRAA e é um peptídeo, produzido pelas células endoteliais, que realiza importante papel na regulação da pressão arterial através da vasoconstrição, após ligação com seu receptor, além de influenciar no crescimento e remodelamento vascular (TIMMERMANS et al., 1993;

YOUNG; LEVINE; KARUMANCHI, 2010). A ligação da ANG-II com seu receptor nas células endoteliais também estimula a produção de EROs, aumenta a expressão de ICAM-1 e a liberação de ET-1 pelo endotélio (VAN DEN OEVER et al., 2010).

A integridade do endotélio é essencial à regulação do tônus vascular, do fluxo sanguíneo, da perfusão tissular, à proteção contra espasmo, trombose e a própria aterogênese (BATLOUNI, 2001). O controle da dilatação e da contração dos vasos sanguíneos é realizado como resposta a alterações do fluxo sanguíneo ou a agentes vasoativos (DE CATERINA, 2000; CARVALHO et al., 2001).

O endotélio normalmente mantém o equilíbrio entre diversos processos biológicos opostos. Respostas adequadas, ou ativação endotelial, resultam na liberação de substâncias que regulam os processos biológicos. Já as respostas inadequadas levam à disfunção endotelial, que pode resultar em doenças (GRANGER et al., 2002).

2.2 ENDOTÉLIO E GRAVIDEZ

A gestação normal é caracterizada por alterações dramáticas no sistema cardiovascular materno que começam logo após a concepção, aumentando o fluxo sanguíneo e a oferta de nutrientes para a placenta e para o feto (MYATT; WEBSTER, 2009). O volume sanguíneo e o débito cardíaco aumentam 40 a 50% no primeiro semestre gestacional. Além disso, há uma queda simultânea da pressão arterial, que começa no primeiro trimestre, atinge um nadir no meio da gestação e retorna ao nível pré-gestacional próximo ao parto (GILLHAM; KENNY; BAKER, 2003).

Os vasos sanguíneos maternos adaptam-se à gestação mediante mudanças estruturais e alterações na sua reatividade (WEDEL et al., 2009). Apesar de os mecanismos envolvidos ainda não estarem elucidados, atualmente existem fortes evidências do papel do endotélio na adaptação cardiovascular da gestação (GILLHAM; KENNY; BAKER, 2003; LUKSHA; NISELL; KUBLICKIENE, 2004). A gestação é marcada pelo aumento do relaxamento dos vasos, mediado pelo endotélio e pela diminuição da resposta dos vasos aos vasoconstritores, como a ANG II e a epinefrina (KHALIL; GRANGER, 2002; MYATT; WEBSTER, 2009).

A circulação mesentérica do adulto, composta pelos vasos que suprem os intestinos delgado e grosso, o fígado e o baço, comporta um quarto do volume sanguíneo (WEDEL et al., 2009). Estudos em humanos e em ratos, avaliando as artérias mesentéricas na gestação, documentaram alterações significativas nesses vasos, inclusive a diminuição da reatividade adrenérgica (simpática) e o aumento da vasodilatação dependente do endotélio (CRANDALL; KEVE; MCLAUGHLIN, 1990; GERBER; ANWAR; POSTON, 1998; COOKE; DAVIDGE, 2003). Já em relação à adaptação do sistema venoso, existem menos dados na literatura. Wedel e outros (2009) realizaram experimento em ratas grávidas e evidenciaram um aumento significativo da vasodilatação venosa desses animais, o que vai de acordo com os demais estudos que avaliaram a vasodilatação nas artérias uterinas e mesentéricas de ratas, ovinos e também de humanos.

A modificação das artérias do leito placentário, levando a um estado de baixa resistência e fluxo sanguíneo aumentado, é alcançada por meio do remodelamento das artérias espirais uterinas pelo trofoblasto (MYATT; WEBSTER, 2009). O trofoblasto infiltra-se pela parede endometrial até alcançar as artérias espirais uterinas. A seguir, o citotrofoblasto recobre a decídua com destruição da camada muscular arterial, transformando-a em vasos de baixa resistência. Durante esse processo, o citotrofoblasto substitui seu fenótipo originariamente epitelial pelo fenótipo endotelial, recobrando a camada endovascular das artérias espirais maternas (ZHOU et al., 1997). A interação entre o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e as formas solúveis circulantes de tirosina quinase 1 (sFlt-1) controlam essa transformação do fenótipo no citotrofoblasto (MYATT; WEBSTER, 2009). Essas alterações permitem que a artéria uterina se expanda à medida que a gestação progride, evitando a restrição de fluxo sanguíneo à unidade feto-placentária (ZHOU et al., 1997).

Acredita-se que o aumento do relaxamento endotelial seja resultado de três substâncias vasodilatadoras: NO, EDHF e PGI₂. A contribuição de cada vasodilatador varia de acordo com o calibre dos vasos (LUKSHA; NISELL; KUBLICKIENE, 2004).

Na tentativa de categorizar as alterações vasculares em gestações normais e patológicas, dois tipos de vasos são habitualmente estudados. Artérias de resistência do miométrio são escolhidas por se tratar dos vasos que determinam o

fluxo sanguíneo para o feto e para a placenta. Vasos do omento são usados como uma espécie de espelho da circulação sistêmica, demonstrando as alterações na rede vascular materna como um todo (GILLHAM; KENNY; BAKER, 2003).

É normalmente aceito que o NO tem importante papel na vasodilatação sistêmica da gravidez (LUKSHA; NISELL; KUBLICKIENE, 2004). A já citada interação entre o VEGF e as sFlt-1 induz a liberação de NO (MYATT; WEBSTER, 2009). No entanto, apesar de estudos em animais sugerirem o aumento da produção de NO, em humanos os resultados são conflitantes. Nesses estudos foram dosados os níveis de nitrito e nitrato, que são produtos finais estáveis do metabolismo do NO. Alguns autores, como Seligman e outros (1994), encontraram concentração sérica de nitrito aumentada em gestantes normotensas, enquanto outros, como Brown e outros (1995) e Morris e outros (1995), não detectaram um aumento do NO ou de seus metabólitos quando dosadas as concentrações plasmáticas e urinária de nitrato ou a concentração de NO exalado em grávidas normotensas (SELIGMAN et al., 1994; BROWN et al., 1995; MORRIS et al., 1995). Esses diferentes resultados podem ser explicados pelas diferentes metodologias, ressaltando-se que é extremamente difícil o controle nesses estudos, uma vez que a dieta altera os níveis plasmáticos e a excreção de nitrato (GILLHAM; KENNY; BAKER, 2003).

Mais recentemente, o papel do EDHF na gestação vem sendo reconhecido. Luksha, Nisell e Kublickiene (2004) demonstraram que o relaxamento endotelial em gestações normais se deve tanto ao NO quanto ao EDHF, com participação praticamente igual (GILLHAM; KENNY; BAKER, 2003; LUKSHA; NISELL; KUBLICKIENE, 2004). A importância do EDHF é variável de acordo com o calibre do vaso, e sua participação mais significativa é observada na microcirculação (GILLHAM; KENNY; BAKER, 2003).

Estudos que avaliavam a resistência dos vasos tanto do miométrio quanto do omento mostraram que a PGI₂ tem pouco ou não tem nenhum papel no relaxamento endotelial da gravidez (GILLHAM; KENNY; BAKER, 2003; LUKSHA; NISELL; KUBLICKIENE, 2004).

A gestação normal é marcada pelo desenvolvimento de dois sistemas de relaxamento endoteliais paralelos, formados pelo NO e pelo EDHF, garantindo que, na falha de um, o outro mecanismo sobressaia (GILLHAM; KENNY; BAKER, 2003).

Além do que já foi exposto, o SRAA também sofre alterações na gestação normal com o aumento dos níveis de concentração da renina plasmática e o aumento da atividade da renina e dos níveis de ANGII. No entanto, a rede vascular parece apresentar menor resposta à ANGII (GILBERT et al., 2008).

2.3 O ENDOTÉLIO E A PRÉ-ECLÂMPsia (PE)

Segundo a literatura, a PE ocorre em 5-10% das gestações e é a principal causa de morbidade e mortalidade materna e perinatal (GRANGER et al., 2002; KIM et al., 2004; YOUNG; LEVINE; KARUMANCHI, 2010). Seus sintomas cardinais são hipertensão arterial (definida como pressão sistólica ≥ 140 mmHg ou pressão diastólica ≥ 90 mmHg) e proteinúria (300 mg ou mais em amostra de urina de 24 horas). Classicamente a PE aparece após vinte semanas de gestação até 48 horas antes do parto. Historicamente, o edema fez parte da tríade diagnóstica da doença (hipertensão, proteinúria e edema); no entanto, edema é uma manifestação muito inespecífica para o diagnóstico, já que a maioria das mulheres sem PE desenvolve esse sinal no final da gestação (LEVINE; KARUMANCHI, 2010).

O National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy (REPORT..., 2000), em sua última revisão de 2000, apresentou proposta de classificação para os estados hipertensivos da gravidez e definiu os seguintes critérios para o diagnóstico de PE:

- PA sistólica ≥ 140 mmHg ou PA diastólica ≥ 90 mmHg após vinte semanas em gestantes com PA prévia normal.
- Proteinúria ≥ 300 mg em 24 horas (ou $\geq 1+$ em amostra de urina).
- Variados graus de hemólise, de plaquetas, e testes de função hepática anormais.

Apesar de ser uma das principais causas de morbi-mortalidade materna e importante causa de morbidade fetal, de acordo com diversos estudos já publicados sobre o tema, os mecanismos responsáveis pela patogênese da PE ainda não foram totalmente elucidados (GRANGER et al., 2002).

A hipertensão associada à PE começa na gravidez e remite após o parto, o que indica o papel crucial da placenta no desenvolvimento da doença (GRANGER et al., 2002). Mesmo sem o completo conhecimento da patofisiologia da doença, a isquemia/hipóxia placentária parece ser um dos pontos-chave. A invasão trofoblástica inadequada, levando ao remodelamento incompleto das artérias espirais uterinas, é considerada a causa principal de isquemia placentária (MAYNARD et al., 2003; GILBERT et al., 2008).

O endotélio vascular materno parece ser um importante alvo de fatores liberados pela placenta, e a disfunção endotelial da PE é largamente descrita na literatura, apesar de os mecanismos exatos ainda não estarem esclarecidos (SELIGMAN et al., 1994; GRANGER et al., 2002; MAYNARD et al., 2003; GILBERT et al., 2008; YOUNG; LEVINE; KARUMANCHI, 2010; YINON et al., 2010). Acredita-se que a placenta mal perfundida e com hipóxia comece a sintetizar e a liberar quantidades crescentes de fatores vasoativos. Diversos mediadores foram aventados como sendo os principais responsáveis pela disfunção endotelial: homocisteína, $TNF\alpha$, anticorpos antifosfolípidos, Fas-ligante (FasL) ou lipídeos oxidados. No entanto, nenhum deles teve participação comprovada em estudos (MAYNARD et al., 2003). Atualmente, acredita-se que as sFlt-1, as citocinas e possivelmente os autoanticorpos que se unem aos receptores de ANG II sejam os responsáveis pela disfunção endotelial na PE (MAYNARD et al., 2003; GILBERT et al., 2008).

Na PE parece ocorrer um aumento de sFlt-1 associado com a diminuição do fator de crescimento placentário (PIGF) e do VEGF (CUDIHY; LEE, 2009; YOUNG; LEVINE; KARUMANCHI, 2010). Estudo comparando pacientes portadores de PE grave com gestantes normotensas mostrou a diminuição estatisticamente significativa nos níveis de VEGF e PIGF livre (POLLIOTTI et al., 2003). O VEGF estabiliza as células endoteliais nos vasos sanguíneos e é especialmente importante para manutenção do endotélio nos rins, fígado e cérebro. O PIGF também é um potente fator de crescimento dos vasos e atua amplificando a ação do VEGF. Tanto o VEGF quanto o PIGF são antagonizados pelas sFlt-1, já que essas formas solúveis se unem a esses fatores impedindo a ligação com seus receptores endógenos (LEVINE et al., 2004; CUDIHY; LEE, 2009; YOUNG; LEVINE; KARUMANCHI, 2010).

Alterações em outros fatores angiogênicos também foram observadas na PE, como endoglina solúvel (sEng), que é um correceptor do fator de crescimento transformante beta (TGF β) 1 e 3 expresso nas membranas celulares do endotélio vascular e do sincíotrofoblasto (LEVINE et al., 2006; CUDIHY; LEE, 2009). A sEng induz a hipertensão e o aumento da permeabilidade vascular em ratas prenhas e, quando combinado com sFlt-1, foi capaz de induzir alterações semelhantes à síndrome HELLP (do inglês: *haemolysis, elevated liver enzymes, low platelet counts*) nas ratas. Em gestantes, estudo mostrou que os níveis de sEng e os níveis de sFlt-1 estão aumentados semanas antes do início da PE (LEVINE et al., 2006).

Em relação ao NO, é bem conhecido o seu papel de vasodilatação e de atenuante da resposta a vasoconstritores com o aumento do fluxo útero-placentário, por isso, um aumento na sua produção na gestação normal bem como sua diminuição na PE são empiricamente esperados (MYATT; WEBSTER, 2009). No entanto, como já descrito anteriormente, os estudos são conflitantes (MYATT; WEBSTER, 2009). Estudos realizados em diversos laboratórios mostraram que a inibição crônica do NOs em ratas grávidas levou à hipertensão, associada a vasoconstrição periférica e renal, proteinúria, crescimento intrauterino restrito, além do aumento da morbidade fetal (GILBERT et al., 2008). O NO parece interferir no metabolismo tanto do VEGF quanto do TGF β , e um estudo recente mostrou diminuição da produção dos metabólitos do NO em pacientes com PE (YOUNG; LEVINE; KARUMANCHI, 2010).

Numerosos estudos apontaram o estresse oxidativo com liberação de EROs como importante mediador da disfunção endotelial na PE (RYU et al., 2007). Nos mamíferos, a placenta é a interface entre a circulação materna, que carrega sangue rico em O₂, e a circulação fetal. As células embrionárias e fetais são particularmente sensíveis ao estresse oxidativo, devido às diversas divisões celulares com exposição constante do DNA. O sincíotrofoblasto é o local que está mais exposto ao estresse oxidativo por ser a camada mais externa de células embrionárias, devido ao íntimo contato com o sangue materno rico em O₂ e por conter poucas enzimas antioxidantes. A gestação já é um estado de estresse oxidativo devido ao aumento do metabolismo materno e à atividade da placenta. Na PE, a placenta com hipóxia resultante da inadequada invasão trofoblástica resulta em um estado com ainda mais estresse oxidativo do que a gestação normal (MYATT; WEBSTER, 2009).

Nessa condição, ocorre um desequilíbrio entre fatores pró e antioxidantes, que resulta em lesão endotelial tanto por ação direta na rede vascular, quanto por redução da biodisponibilidade de mediadores vasoativos. Na PE, o estresse oxidativo pode resultar também de interações com o componente materno, que pode incluir condições preexistentes, como obesidade, diabetes e dislipidemia. Vários antioxidantes estão significativamente diminuídos em pacientes com PE, como as vitaminas C, A e E, β caroteno e glutathiona (GILBERT et al., 2008).

O SRAA também parece estar alterado na PE com um aumento marcante da sensibilidade à ANGII, apesar de os mecanismos envolvidos não terem sido descobertos (GILBERT et al., 2008). O aumento da resposta à ANG II na PE pode ser secundário à formação de autoanticorpos que se ligam e ativam o receptor de ANGII (YOUNG; LEVINE; KARUMANCHI, 2010). Esses autoanticorpos parecem contribuir para a invasão inadequada do citotrofoblasto, levando à produção de fatores antiangiogênicos e à lesão endotelial (YOUNG; LEVINE; KARUMANCHI, 2010).

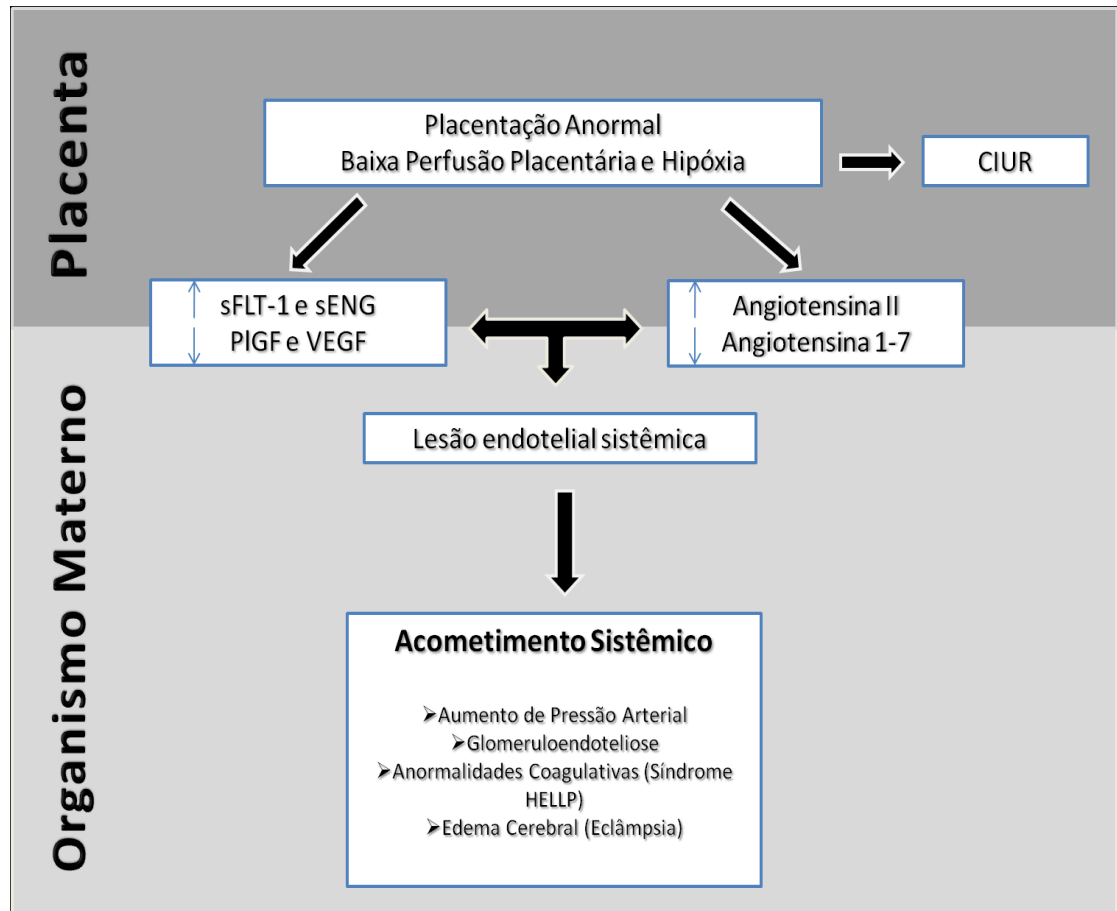


FIGURA 1 – Mecanismos envolvidos no desenvolvimento da pré-eclâmpsia.

Cortesia do Dr. Augusto Brandão

2.4 O ENDOTÉLIO E O *DIABETES MELLITUS* GESTACIONAL (DMG)

O DMG é a intolerância a carboidratos, com gravidade variada, que começa ou é identificada na gestação (CATALANO et al., 2003; STANLEY et al., 2010). É marcado por intolerância à glicose, que leva à hiperglicemia materna e se associa a distúrbios do desenvolvimento fetal, complicações perinatais, como macrosomia, hipoglicemia, hiperbilirrubinemia, policitemia e desordens neurológicas (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2007; WESTERMEIER et al., 2009). Constitui-se como uma das complicações obstétricas mais comuns, acometendo 5-8% das gestações (STANLEY et al., 2010). Dependendo da presença de outros fatores de risco associados, mulheres com DMG apresentam até 60% de risco de desenvolvimento de *Diabetes mellitus* tipo II (DM-II) em 5 a 16 anos após a gestação (STANLEY et al., 2010).

Dados da literatura mostram que a prevalência do DMG vem aumentando em proporção direta com o aumento do DM-II (DABELEA et al., 2005). Lawrence e outros (2008) mostraram que a prevalência de DMG dobrou em oito anos com um aumento de 12% ao ano, apesar de terem sido mantidos os critérios diagnósticos e do aumento não poder ser explicado por diferenças de idade, etnia ou história prévia de DMG nas populações estudadas (LAWRENCE et al., 2008).

Para o diagnóstico do DMG, a Organização Mundial da Saúde preconiza o uso das glicemias de jejum e de duas horas, empregando-se os mesmos pontos de corte utilizados fora da gravidez. O ponto de corte para o diagnóstico do DMG com a glicemia de jejum é de 126mg/dl, repetida e confirmada, e para a glicemia de duas horas pós 75g de dextrosol é de 140mg/dl, os mesmos valores com que se faz o diagnóstico de tolerância diminuída à glicose em mulheres não gestantes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999). A gestação normal é situação que já favorece o diabetes devido ao aumento da resistência periférica à insulina e à diminuição da tolerância à glicose, que fica mais evidente no terceiro trimestre (ANASTASIOU et al., 1998; MOORE, 2010).

Vários estudos demonstraram que disfunções endoteliais são associadas a complicações do diabetes. No entanto, os estudos variam na dependência do tipo de vaso (DE VRIESE et al., 2000). Existem fortes evidências da existência de lesão endotelial em pacientes com diabetes e de que a disfunção do endotélio exerce papel crucial na vasculopatia e, conseqüentemente, na morbidade e mortalidade relacionadas a essa doença (SAVVIDOU; GEERTS; NICOLAIDES, 2002).

Em relação ao DMG, também existem evidências da existência de disfunção endotelial (ANASTASIOU et al., 1998; DE VRIESE et al., 2000; PLEINER et al., 2007; STANLEY et al., 2010). Estudo em ratas que tiveram DMG demonstrou maior resposta a determinado vasoconstritor e reduzida vasodilatação dependente do endotélio quando comparado com estudos realizados em animais sadios, além de aumento de estresse oxidativo nos vasos (maior produção de superóxido e ONOO) (STANLEY et al., 2010). Chirayath e outros (2010) demonstraram que o relaxamento dependente do endotélio no leito vascular do miométrio está prejudicado em mulheres com DMG comparadas a mulheres sem diabetes, grávidas e não grávidas. Também já existem na literatura estudos que demonstram a disfunção endotelial em vasos sistêmicos de pacientes com DMG por meio da dosagem de marcadores de

lesão endotelial ou da FMD da artéria braquial em pacientes com diagnóstico prévio de DMG (ANASTASIOU et al., 1998; ZAWIEJSKA et al., 2011).

Apesar de já ter sido demonstrada a existência da lesão endotelial no DMG, os mecanismos responsáveis por essa disfunção ainda não estão esclarecidos. Além disso, ainda existem controvérsias sobre se o DMG é o causador da disfunção endotelial ou se esta já existia antes do diagnóstico (STANLEY et al., 2010).

Sabe-se que o DMG é resultado de alterações em múltiplos mecanismos metabólicos, que incluem a sensibilidade do endotélio a moléculas vasoativas, como a adenosina ou a insulina (WESTERMEIER et al., 2009).

É descrito na literatura que pacientes com DMG teriam menor ação do vasodilatador NO (DE VRIESE et al., 2000; WESTERMEIER et al., 2009). A redução da síntese de NO foi demonstrada na placenta de pacientes com DMG, o que poderia causar aumento da resistência vascular (DOLLBERG; BROCKMAN; MYATT, 1997). Além disso, as pacientes com diabetes parecem ter as células da musculatura lisa dos vasos menos sensíveis ao efeito do NO (CALVER; COLLIER; VALLANCE, 1992). Como também já foi descrito aumento dos níveis de NO em artérias e veias placentárias de gestantes com DMG, a disfunção vascular nessa doença parece ser uma consequência da dissociação funcional entre a produção do NO e a sua biodisponibilidade para o endotélio e para a musculatura lisa vascular (WESTERMEIER et al., 2009).

A adenosina participa, através de seus receptores de membrana, da formação do NO. O DMG é caracterizado por alterações tanto da glicose e do metabolismo da adenosina, quanto da regulação do tônus vascular da placenta e do feto (WESTERMEIER et al., 2009). Westermeier e outros (2009) mostraram que alterações no transporte de adenosina parecem acontecer em pacientes com DMG e participam da lesão ao endotélio. Os transportadores nucleosídeos equilibrativos (ENTs) são essenciais para a manutenção do funcionamento normal do endotélio na unidade fetoplacentária. Os ENTs são os responsáveis por regular o nível extracelular dos nucleosídeos, especialmente da adenosina, modulando seus efeitos vasculares. Essa remoção anormal de adenosina extracelular pelo endotélio do feto em gestações com DMG pode estar implicada na lesão endotelial (WESTERMEIER et al., 2009).

O estresse oxidativo e a formação de EROs parecem estar envolvidos no DMG, o que já foi comprovado por estudo em ratas. Essa maior formação de superóxido e ONOO cursa com conseqüente diminuição da biodisponibilidade de NO e de seu efeito vasodilatador (STANLEY et al., 2010). A hiperglicemia existente na doença pode induzir estresse oxidativo em células endoteliais (WESTERMEIER et al., 2009).

2.5 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DO ENDOTÉLIO

Não existe um método direto de avaliação da função endotelial em humanos. Têm sido propostos métodos indiretos de avaliação da disfunção endotelial, por exemplo, através da medida de vasodilatadores endotélio-dependentes ou de proteínas regulatórias derivadas do endotélio (STEHOUWER et al., 1997). Existem diversos marcadores de lesão endotelial citados na literatura e avaliados em várias doenças cardiovasculares, reumáticas, hematológicas, inclusive após cirurgias (FRIJNS et al., 1997; EIKEMO; SELLEVOLD; VIDEM, 2004; KATO et al., 2005; KLUZ et al., 2009). De forma geral, os marcadores de lesão endotelial estudados são semelhantes e, em relação a doenças obstétricas, não há dúvidas de que a PE, doença comprovadamente marcada por lesão do endotélio, é a enfermidade na qual mais se estuda e se procura identificar esses métodos de avaliação (GRANGER et al., 2002).

Um teste ideal de *screening* de lesão endotelial deve ter boa sensibilidade, especificidade e valor preditivo positivo. Além disso, o custo, ser ou não acessível e/ou invasivo, e o adequado controle de qualidade são fatores essenciais que precisam ser levados em consideração (GRILL et al., 2009).

Um dos primeiros marcadores de disfunção endotelial avaliados em pacientes com PE foi o nível sérico de fibronectina, que parece estar aumentado em mulheres com essa enfermidade, e altos níveis já são detectados a partir da vigésima semana de gestação. A fibronectina é uma glicoproteína encontrada na matriz extracelular do endotélio que é exposta à corrente sanguínea quando o revestimento endotelial é lesado e, durante o processo de reparo da lesão endotelial, é produzida em grande quantidade (GRANGER et al., 2002). Também foram identificados níveis elevados

de trombomodulina, uma glicoproteína integrante da membrana da célula endotelial que funciona como anticoagulante (DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2001; GRANGER et al., 2002), e do FvW, que é sintetizado por células endoteliais e medeia a adesão das plaquetas ao subendotélio lesado em gestantes com PE (DENG et al., 1994; GRANGER et al., 2002).

Os níveis de NO também foram avaliados como marcadores de lesão endotelial na PE. No entanto, como já descrito anteriormente, os resultados foram conflitantes, o que prejudica seu uso na prática clínica (SELIGMAN et al., 1994; BROWN et al., 1995; MORRIS et al., 1995; GILLHAM; KENNY; BAKER, 2003).

Os fatores angiogênicos, como o VEGF, o PIGF e sFlt-1, também são estudados como marcadores de lesão endotelial, e as dosagens de sFlt-1 e de PIGF como testes de *screening* para PE já foram lançadas na Europa (GRILL et al., 2009). Como já citado anteriormente, na literatura existem fortes evidências do aumento da expressão das sFlt-1 associado à diminuição da biodisponibilidade do VEGF e do PIGF nas gestantes com PE (POLLIOTTI et al., 2003; LEVINE et al., 2004; CUDIHY; LEE, 2009; GRILL et al., 2009; YOUNG; LEVINE; KARUMANCHI, 2010). As sFlt-1 são proteínas antiangiogênicas que se ligam aos receptores do VEGF e do PIGF impedindo a interação desejada e levando à disfunção endotelial (LEVINE et al., 2004). O aumento nos níveis de sFlt-1 aparecem no segundo trimestre da gestação, enquanto as alterações na concentração de VEGF e PIGF livres já podem ser vistas no final do primeiro trimestre (LEVINE et al., 2004; GRILL et al., 2009).

A concentração de sEng aumenta nos últimos dois meses da gestação normal; nas gestações com PE esse aumento ocorreria mais cedo (GRILL et al., 2009).

O processo inflamatório é marcado pela adesão de leucócitos nas células endoteliais e posterior migração dessas células para a região perivascular. Essa adesão dos leucócitos é comandada por moléculas de adesão celular, como, por exemplo, as seguintes, que são encontradas em células endoteliais: VCAM-1, ICAM-1 e E-selectina (KIM et al., 2004). As formas solúveis das moléculas de adesão são liberadas na circulação, e seus níveis plasmáticos aumentados vêm sendo relacionados à disfunção endotelial, como ocorre em gestantes com PE (GRANGER et al., 2002).

A VCAM-1 é uma molécula de adesão pertencente à superfamília das imunoglobulinas e funciona como um receptor transmembrana nas células do endotélio vascular. O aumento na concentração de VCAM-1 pode refletir um nível elevado dessa molécula na superfície endotelial. Alguns estudos já demonstraram níveis elevados dessa substância em pacientes com PE e propõem essa dosagem como marcador de lesão endotelial (HALLER et al. 1997; KIM et al., 2004).

A ICAM-1 é outro membro da superfamília das imunoglobulinas que está envolvido na regulação da adesão dos leucócitos ao endotélio bem como na sua migração. Kim e outros (2004) mostraram níveis elevados dessa molécula de adesão em pacientes com PE grave quando comparados aos níveis em gestantes sem a doença. No entanto, quando foram comparados os níveis de ICAM-1 em gestantes com PE leve com os de gestantes normais, estes não foram significativamente maiores (KIM et al., 2004). Níveis elevados na PE também foram demonstrados em outros estudos, contudo, esses resultados nem sempre foram encontrados, como ocorreu com Phocas e outros (2000), que não observaram um aumento do ICAM-1 na PE (PHOCAS et al., 2000).

A E-selectina poderia ser usada como marcador de lesão endotelial por uma série de motivos, como sua especificidade para as células endoteliais e seu papel crucial na adesão de neutrófilos ao endotélio. Por esses motivos, a E-selectina solúvel foi sugerida como um indicador do estado funcional do endotélio, e seus níveis elevados foram observados em pacientes com PE (HUNG et al., 2004). Kim e outros (2004) avaliaram os níveis séricos de E-selectina e encontraram aumento na concentração sérica no soro de pacientes com PE leve e grave, quando comparada à de gestantes normais (KIM et al., 2004).

A dosagem de células endoteliais circulantes (CECs) é outra forma de avaliar lesão vascular e foi inicialmente relacionada a várias doenças que cursam com lesão de endotélio, como infarto agudo do miocárdio, choque séptico, vasculites de pequenas células associadas a anticorpos, anticitoplasma de neutrófilos (ANCA), púrpura trombocitopênica trombótica, lúpus eritematoso sistêmico e doença de Behçet. Um aumento no número das CECs parece ser, inclusive, marcador de atividade das doenças que cursam com disfunção endotelial. Canbakan e outros (2007) e Grundmann e outros (2008) observaram um aumento significativo das CECs em pacientes com PE quando comparadas com as de pacientes gestantes

sem PE e pacientes não gestantes. Acosta e outros (2011) avaliaram se mulheres com DMG e seus filhos apresentavam número reduzido de progenitores de células endoteliais em comparação com os de gestantes saudáveis. O resultado foi um número reduzido de células progenitoras das células endoteliais em grávidas com DMG, mas não houve diferença estatisticamente significativa entre o número de CECs em gestantes com DMG comparado com o de gestantes saudáveis. Na verdade, a dosagem de células progenitoras difere da dosagem das CECs, o que explicaria as diferenças encontradas na literatura (ACOSTA et al., 2011).

Autoanticorpos agonistas contra o receptor da ANG-II tipo AT1 são descritos na literatura como existentes em pacientes com PE e seriam capazes de induzir respostas relacionadas a desordens hipertensivas nas células vasculares e reduzir a migração de células trofoblásticas (WALLUKAT et al., 1999; DECHEND et al., 2006; HERSE et al., 2008). Esses anticorpos não são específicos de pacientes com PE. Atualmente, o interesse por eles como marcadores da PE vem de um estudo recente de Herse e outros (2008), que avaliaram o aumento desses autoanticorpos e das sFlt-1 em pacientes com PE e encontraram níveis elevados desses possíveis marcadores quando comparados com os níveis de gestantes normotensas (HERSE et al., 2009). Acredita-se que o autoanticorpo AT1 possa ser a primeira etapa da ativação de fatores angiogênicos, como sFlt-1 (STEPAN et al., 2006).

2.6 DILATAÇÃO FLUXO-MEDIADA DA ARTÉRIA BRAQUIAL

A capacidade de os vasos sanguíneos responderem a estímulos químicos e físicos através de alterações em seu lúmen lhes confere a habilidade de autorregulação do tônus e de ajuste do fluxo sanguíneo em resposta a mudanças do ambiente local. Muitos vasos sanguíneos respondem a um estímulo físico através da dilatação com consequente aumento do fluxo. Esse fenômeno é denominado dilatação fluxo-mediada (FMD) (CORRETTI et al., 2002). A FMD foi descrita pela primeira vez em humanos e de forma sistemática por Anderson e Mark (1989). Essa forma de avaliação do endotélio foi inicialmente chamada de “teste da hiperemia reativa” (PYKE; TSCHAKOVSKY, 2005).

A técnica da FMD envolve a avaliação do diâmetro de uma artéria de médio calibre (habitualmente a braquial) através de imagem de ultrassom de alta resolução antes e após a insuflação do manguito de um esfigmomanômetro, o que provoca uma isquemia local e induz um aumento reativo do fluxo e o aumento do lúmen arterial em condições onde não exista disfunção endotelial (BOTS et al. 2005; PATEL; CELERMAJER, 2006). A variação do diâmetro da artéria braquial é calculada. As medidas são sempre feitas em três pontos diferentes da artéria braquial visualizada, calculando-se uma média. Considera-se alterada uma variação menor que 10% (QUYYUMI, 2003; BRANDÃO et al., 2010).

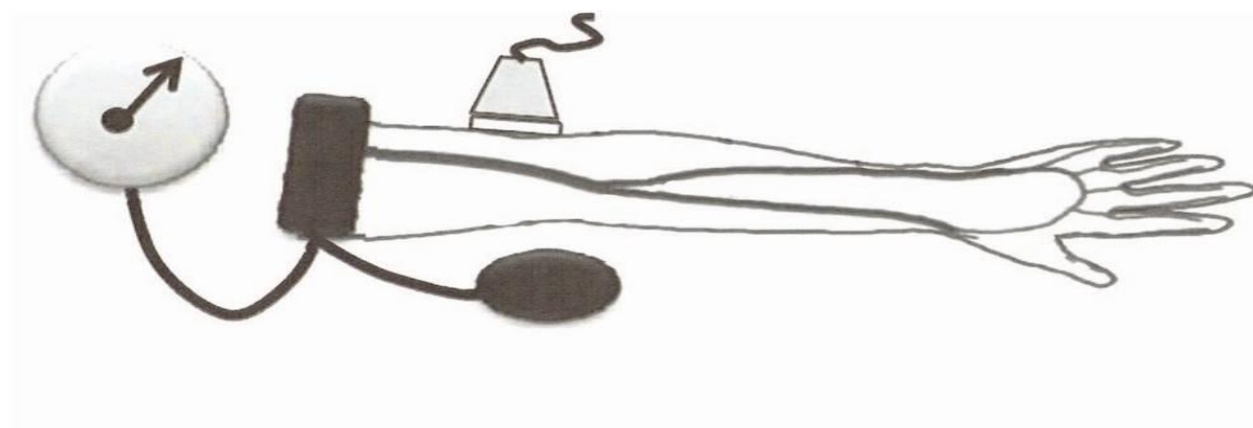


FIGURA 2 – Teste da Dilatação Fluxo-mediada (FMD) da artéria braquial
Cortesia do Dr. Augusto Brandão

Joannides e outros (1995) demonstraram que a infusão de um inibidor da NOs através de um cateter inserido na artéria antes da realização da FMD inibiu a vasodilatação que seria esperada e concluíram que o óxido nítrico é a principal substância envolvida nesse processo (JOANNIDES et al., 1995). Observa-se que, no endotélio lesado, a quantidade de NO liberada não é capaz de provocar a vasodilatação, promovendo aumento no lúmen vascular em proporção menor que o esperado (PECHÁNOVÁ; SIMKO, 2007). Mullen e outros (2001) mostraram que a dilatação decorrente do teste da FMD na artéria radial também foi abolida após a infusão de inibidor da NOs, o que corroborou os achados anteriores da dependência do NO na FMD (PYKE; TSCHAKOVSKY, 2005).

Antes do teste, o paciente é mantido em decúbito dorsal por um mínimo de dez minutos, em um ambiente calmo, com temperatura controlada

(aproximadamente 26°C). Atividade física, cafeína, medicamentos com atividade vasoativa, alimentos gordurosos ou ricos em vitamina C, assim como o cigarro, devem ser evitados, pelo menos seis horas antes da realização do exame. É necessário que o paciente esteja em jejum de oito a doze horas (BRANDÃO et al., 2010).

Apesar de a técnica da FMD já ter sido descrita em numerosos estudos, apresenta variações na literatura com diferentes tempos de oclusão, local de compressão do membro superior (braço ou antebraço) e pressão aplicada (PYKE; TSCHAKOVSKY, 2005).

Com a melhoria tecnológica dos aparelhos de ultrassom disponíveis, imagens mais nítidas podem ser obtidas, o que aprimora a acuidade do teste (BRANDÃO et al., 2010). O aparelho de ultrassom deve ser equipado com um *software* com imagens bidimensionais para vasos, com *doppler* colorido, monitor interno com eletrocardiograma e um transdutor vascular de alta frequência (mínimo 7 MHz) (CORRETTI et al., 2002).

O paciente expõe o braço de maneira confortável para que sejam obtidas as imagens da artéria braquial. A artéria é então localizada acima da fossa antecubital. Para que seja estimulada resposta vasodilatadora, um manguito de esfigmomanômetro é posicionado e insuflado acima da fossa antecubital ou na região do antebraço. A localização do manguito influencia no resultado do teste. A compressão no antebraço normalmente leva a uma porcentagem menor de dilatação da artéria. Ainda não há consenso na literatura sobre o melhor local de compressão (CORRETTI et al., 2002).

A pressão aplicada através do manguito deve ser de, pelo menos, 50 mmHg acima da pressão arterial sistólica, durante cinco minutos, para que ocorra a oclusão do fluxo arterial. Isso causa isquemia com consequente vasodilatação através de mecanismos autorregulatórios, desde que a função endotelial esteja mantida (CORRETTI et al., 2002).

Bots e outros (2005) pesquisaram na literatura os artigos sobre FMD publicados entre 1992 e 2001 e argumentaram que, apesar de os estudos já publicados sobre a FMD normalmente apresentarem boa validade interna, a validade externa seria questionável. O valor absoluto médio da FMD foi consideravelmente

diferente entre as pesquisas envolvendo pessoas saudáveis, variando de 1,9 a 19,2%. Na maioria dos estudos encontrados foi utilizado o ultrassom no modo B (87,7%), o local da realização do exame foi acima da fossa antecubital (89,2%) e o tempo de oclusão ficou entre quatro e cinco minutos (84,4%). Em 40,9% deles, a pressão de oclusão foi acima de 250 mmHg. A grande questão seria definir se essas diferenças se deveram simplesmente às diferentes características das populações estudadas (sexo, idade, presença de fatores de risco cardiovasculares) ou às variações da técnica do exame. Esses autores concluíram que existe uma grande sobreposição em relação às características das populações estudadas e que, em relação à técnica, os fatores que mais influenciam nos resultados da FMD são a localização da compressão no membro superior (compressão no antebraço leva a um valor menor de FMD) e o tempo de oclusão maior do que quatro minutos e meio (aumenta o valor de FMD). Todavia, ressaltam que essas diferenças na técnica não seriam capazes de explicar todas as diferenças observadas e sugerem que uma metodologia uniforme poderá facilitar a comparação entre estudos futuros (BOTS et al. 2005).

Após a primeira descrição e após o estudo inicial de Celermajer e outros (1992), que foi realizado com o objetivo de identificar lesão endotelial em pacientes com fatores de risco para doença cardiovascular antes da formação das placas de ateroma, numerosos trabalhos foram publicados sobre a técnica não invasiva de avaliação da função endotelial através da medida do diâmetro da artéria braquial por ultrassom de alta resolução. As publicações, em sua maioria, buscaram estabelecer a relação entre os fatores de risco cardiovasculares e a função endotelial avaliada pela FMD (PATEL; CELERMAJER, 2006). Sorensen e outros (1994) mostraram, através da FMD, que a hipercolesterolemia familiar está associada à disfunção endotelial em crianças e que o grau dessa disfunção está relacionado aos níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL) (SORENSEN et al., 1994). O tabagismo também já foi avaliado e associado com disfunção endotelial tanto em adolescentes fumantes quanto em fumantes passivos (CELERMAJER et al., 1993; CELERMAJER et al., 1996). Outros fatores de risco cardiovasculares já estudados e com demonstração de FMD alterada são: hipertensão arterial sistêmica, idade avançada, sexo masculino, doença coronariana e diabetes (PLAYFORD; WATTS, 1998).

Além das inúmeras publicações do uso da FMD em doenças cardiovasculares, esse teste já foi utilizado para avaliar a função endotelial em

muitas outras áreas da Medicina, como em doenças renais, diabetes, doenças reumáticas e até mesmo em esteatose hepática (CYPIENÉ et al., 2010; VLACHOPOULOS et al., 2010; BROOK et al., 2011; KUTLUGÜN et al., 2011; LOCKHART et al., 2011).

O uso da FMD para avaliação do endotélio em Ginecologia e Obstetrícia ainda se encontra em fase inicial (BRANDÃO et al., 2010). Na Ginecologia, o teste da FMD já foi usado para avaliar várias situações, como a de pacientes com síndrome do ovário policístico e de pacientes em terapia hormonal (ROSSI et al., 2008; SOYMAN et al., 2011). Em relação à Obstetrícia, a gestação normal é marcada por maior vasodilatação consequente do aumento do NO, e estudos demonstraram alterações na FMD em gestantes sem intercorrências clínicas quando comparadas a não gestantes saudáveis da mesma idade. Esse aumento se dá, principalmente, a partir do segundo trimestre de gestação (SIERRA-LAGUADO; GARCIA; LÓPEZ-JARAMILLO, 2006; VALTONEN et al., 2008).

Os conhecimentos da fisiopatologia da PE, doença com a conhecida lesão endotelial sistêmica, levou à dedução de que gestantes com esse diagnóstico provavelmente apresentavam um valor de FMD mais baixo que as pacientes normotensas (BRANDÃO et al., 2010). Em estudo do Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG, Brandão e outros (2011) encontraram que a FMD esteve significativamente alterada em pacientes portadoras de pré-eclâmpsia, comparativamente com gestantes normotensas (BRANDÃO et al., 2011).

Savidou e outros (2003) demonstraram que os valores de FMD se alteram previamente ao aumento dos níveis pressóricos em pacientes que desenvolvem pré-eclâmpsia. Outros estudos, como o de García e outros (2007), também avaliaram o teste da FMD como preditor de PE. Nesse caso foi realizado um estudo de caso controle com 507 gestantes normotensas e observou-se que as pacientes que desenvolveram PE apresentaram o teste da FMD alterado antes do aparecimento da doença (GARCÍA et al., 2007). Pacientes com passado de PE também já foram avaliadas e apresentaram teste da FMD alterado quando comparadas com pacientes sem história prévia de PE. Esses resultados sugerem que a lesão endotelial gerada na fisiopatologia da PE persista por além da gravidez (PÀEZ et al., 2009).

A gestação é caracterizada pelo desenvolvimento de uma resistência significativa à insulina que, quando superposta a defeitos preexistentes à sua ação,

desencadeia o DMG (ANASTASIOU et al., 1998). A lesão endotelial no diabetes e no DMG já foi largamente demonstrada, como anteriormente descrito, o que justifica o uso da FMD como forma de avaliação endotelial em pacientes diabéticos (ANASTASIOU et al., 1998; DE VRIESE et al., 2000; ZAWIEJSKA et al., 2011).

Existem na literatura estudos com FMD em pacientes com diabetes. Babar e outros (2011), por exemplo, compararam crianças com diabetes do tipo I com controles da mesma faixa etária e encontraram valores significativamente menores da FMD no primeiro grupo. Em relação ao DMG, os estudos encontrados na literatura avaliaram pacientes com passado dessa intercorrência gestacional e mostraram uma diminuição da FMD (ANASTASIOU et al., 1998).

3 OBJETIVOS

- Avaliar e comparar o comportamento da dilatação fluxo-mediada em três grupos: gestantes portadoras de PE, gestantes portadoras de DMG e gestantes sem intercorrências.
- Comparar o resultado da dilatação fluxo-mediada do grupo-controle com o resultado observado no grupo de gestantes com lesão endotelial presumida (PE mais DMG).

4 PACIENTES E MÉTODO

4.1 PACIENTES

Os dados do presente estudo foram pesquisados em um banco de dados do Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas (HC) da UFMG, que contém informações sobre gestantes que foram submetidas ao exame da FMD da artéria braquial. Para a coleta desses dados, foram selecionadas 80 gestantes internadas na maternidade do Hospital, no período de julho de 2008 a agosto de 2009. O acesso aos dados foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Instituição, em 4 de junho de 2008, com o n.º CAAE-0280.0.203.000-08.

As pacientes foram divididas em três grupos: Grupo A, composto por 42 gestantes portadoras de PE; Grupo B (controle), composto por dezenove gestantes normotensas sem comorbidades; e Grupo C, composto por 19 gestantes portadoras de DMG.

A TABELA 1 resume as características de cada grupo estudado. As gestantes apresentavam idade média de 27,37 anos no grupo-controle, 29,0 anos no grupo com PE e 31,74 anos no grupo com DMG ($p = 0,176$). A idade gestacional média no momento da realização da FMD foi de 31,58 semanas no grupo-controle, 33,0 semanas nas pacientes com PE e 29,0 semanas no grupo com DMG ($p = 0,332$). Em relação à cor da pele, 36,6% eram brancas e o restante era constituído por mulheres de outra cor ou cor indeterminada. Na distribuição quanto ao número de gestações, as primigestas foram 31,6% do grupo-controle, 28,6% do grupo com PE e 26,3% do grupo com DMG ($p = 0,597$). O grupo-controle não diferiu do grupo de pacientes com DMG nem do grupo com PE em relação ao número de gestações, partos ou abortos.

TABELA 1 – Caracterização da amostra segundo grupo de causas à admissão na Maternidade do HC - UFMG, no período de julho de 2008 a agosto de 2009.

Características	N	Média	Mínimo	Máximo	DP	Valor – p
IDADE	80					0,176
Controle	19	27,37	14	42	8,02	
PE	42	29,00	14	49	8,80	
DMG	19	31,74	21	45	6,04	
Idade gestacional	80					0,332
Controle	19	31,58	25	38	3,25	
PE	42	33,00	23	39	4,08	
DMG	19	29,00	10	37	6,99	
Gestações	63					0,597
Controle	16	2,25	1	8	1,81	
PE	28	2,00	1	6	1,15	
DMG	19	2,68	1	6	1,49	
Partos	63					0,880
Controle	16	1,31	0	8	2,02	
PE	28	0,82	0	5	1,09	
DMG	19	1,37	0	4	1,46	
Abortos	63					0,132
Controle	16	0,06	0	1	0,25	
PE	28	0,21	0	1	0,42	
DMG	19	0,32	0	2	0,58	

PE = Pré-eclâmpsia; DMG = *Diabetes Mellitus* Gestacional; DP = Desvio-padrão (Mann-Whitney)

4.2 MÉTODO

Trata-se de um estudo transversal realizado no Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG.

O diagnóstico de PE foi realizado de acordo com os critérios definidos pelo *National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy*, 2000 (REPORT..., 2000). Segundo essa classificação, a PE é definida como elevação da pressão arterial após vinte semanas de gestação (níveis pressóricos $\geq 140 \times 90$ mmHg em duas medidas com intervalo de 6 horas), acompanhada pela presença de proteinúria (1+ ou mais na medida de proteinúria de fita ou proteinúria 24 horas $> 0,3\text{g}/24\text{h}$).

Já o diagnóstico de DMG foi baseado na Organização Mundial da Saúde, que preconiza o uso das glicemias de jejum e de duas horas, empregando-se os mesmos pontos de corte utilizados fora da gravidez. O ponto de corte para o diagnóstico do DMG com a glicemia de jejum é de 126mg/dl e para a glicemia de duas horas pós 75g de dextrosol é de 140mg/dl, valores semelhantes aos utilizados para o diagnóstico de tolerância diminuída à glicose fora da gestação (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999).

Foram excluídas do banco de dados pacientes portadoras de comorbidades, como hipertensão arterial crônica, doença renal, doença coronariana e doenças infecciosas. As gestações gemelares, com fetos malformados ou com alteração do crescimento fetal também foram excluídas, assim como as pacientes tabagistas, usuárias de drogas e medicamentos à base de nitrito. Essas são situações sabidamente associadas a lesão endotelial.

As pacientes selecionadas foram consultadas sobre sua disposição em participar do banco de dados no momento da coleta e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Após o consentimento, foram submetidas ao exame da FMD.

A avaliação da FMD foi realizada mediante o uso de aparelho de ultrassonografia com *doppler* colorido SONOACE 8800® – MedsonCo, Ltd., com sonda linear de 7,5 mHz.

As pacientes foram colocadas em repouso por quinze minutos, em decúbito dorsal, em uma sala climatizada, com temperatura que variava entre 20°C e 24°C. A artéria braquial foi identificada medialmente na fossa antecubital do membro superior dominante. Uma imagem do vaso foi obtida a aproximadamente cinco centímetros do cotovelo do membro superior. Foi realizado um corte longitudinal (modo B)

durante o momento de menor distensão do vaso, correspondente à diástole cardíaca, obtido através do resgate de imagens pelo “cine loop” do equipamento. A imagem foi congelada para obtenção da média de três medidas do calibre do vaso (D1).

Após essa primeira aferição, o manguito do esfigmomanômetro, posicionado proximamente ao local da medida da artéria, foi insuflado por cinco minutos até atingir uma pressão superior a 250 mmHg e, posteriormente, desinsuflado vagarosamente.

A média de três novas medidas do calibre do vaso foi obtida com a mesma técnica descrita anteriormente, após um minuto da desinsuflação do manguito (D2). O valor da FMD foi obtido por meio do cálculo da seguinte fórmula: $FMD (\%) = [(D2 - D1)/D1] \times 100$, onde D1 = diâmetro basal e D2 = diâmetro pós-oclusão. O exame da FMD foi considerado alterado quando não houve dilatação superior a 10%.

Todos os exames foram realizados sempre por um mesmo profissional do HC-UFMG, treinado e certificado em ultrassonografia.

4.2.1 Método Estatístico

A comparação dos resultados da FMD da artéria braquial neste trabalho foi feita de duas formas distintas: de forma categorizada, pela qual se considerou teste normal (dilatação da artéria braquial maior que 10%) x teste alterado (dilatação da artéria braquial menor que 10%); de forma contínua, quando foram avaliadas e comparadas as médias de valores de FMD da artéria braquial entre os grupos.

Para a comparação entre os grupos na forma categorizada foi usado o teste de qui-quadrado. Essa comparação foi feita de dois em dois grupos: PE versus controle, DMG versus controle, PE versus DMG e, posteriormente, PE mais DMG versus controle.

Para comparação entre os grupos na forma contínua, ou seja, utilizando-se os valores médios da FMD da artéria braquial em cada grupo, foram realizados testes não paramétricos, como o de Kruskal-Wallis e, posteriormente, o teste de Dunn. Quando foram avaliados os três grupos separadamente, o teste de Kruskal-Wallis foi

capaz de indicar que existia diferença estatisticamente significativa entre os grupos, mas não apontou quais grupos diferiam entre si. Para identificar onde havia diferença, foram necessários testes de múltiplas comparações entre os postos, os chamados testes *post hoc*. Esses testes envolveram todas as comparações possíveis entre os grupos. No caso deste trabalho, foi utilizado o teste de Dunn, através do software BioEstat 5.0.

5 RESULTADOS

A TABELA 2 demonstra os valores dos diâmetros inicial e final da artéria braquial e o valor da FMD encontrados em cada um dos grupos estudados. A média da FMD foi de 17,55% no grupo controle, 5,36% no grupo de pacientes com PE e 9,18% no grupo com DMG .

TABELA 2 – Avaliação dos diâmetros da artéria braquial antes e após a compressão exercida pelo manguito do esfigmomanômetro (Dilatação Fluxo-mediada da artéria braquial) em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, *diabetes mellitus* gestacional e em gestantes sem intercorrências utilizando-se aparelho de ultrassonografia com *Doppler* colorido (mm).

Grupos	Variáveis	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	Desvio-padrão
Controle	Diâmetro inicial(mm)	2,60	3,83	3,10	3,14	0,41
	Diâmetro final(mm)	2,60	4,60	3,60	3,65	0,52
	FMD(%)	0,00	35,71	16,13	17,55	8,35
PE	Diâmetro inicial(mm)	2,30	5,20	3,60	3,62	0,67
	Diâmetro final(mm)	2,30	5,80	3,75	3,74	0,72
	FMD(%)	0,00	15,79	5,87	5,36	4,61
DMG	Diâmetro inicial(mm)	1,80	3,80	3,10	3,07	0,49
	Diâmetro final(mm)	1,70	4,20	3,50	3,35	0,59
	FMD(%)	0,00	23,33	9,22	9,18	5,98
Total	Diâmetro inicial(mm)	1,80	5,20	3,26	3,37	0,63
	Diâmetro final(mm)	1,70	5,80	3,60	3,63	0,66
	FMD(%)	0,00	35,71	7,88	9,16	7,72

PE = pré-eclâmpsia; DMG = *Diabetes mellitus* gestacional, FMD = Dilatação fluxo-mediada

5.1 RESULTADOS – FORMA CATEGORIZADA

O exame da FMD foi considerado alterado quando não houve dilatação superior a 10%, valor obtido com a seguinte fórmula, descrita anteriormente: $FMD (\%) = [(D2 - D1)/D1] \times 100$, onde D1 = diâmetro basal e D2 = diâmetro pós-oclusão. A porcentagem de exames normais e alterados em cada grupo está demonstrada na FIGURA 3.

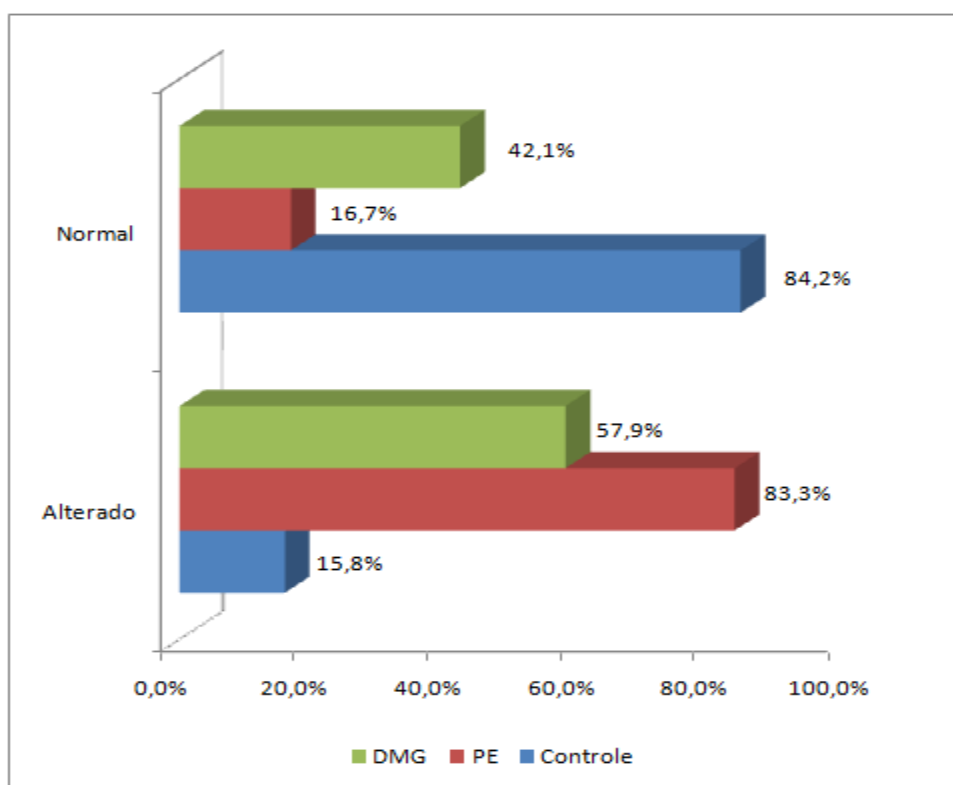


FIGURA 3 – Demonstração dos diâmetros da artéria braquial antes e após a compressão exercida pelo manguito do esfigmomanômetro (Dilatação Fluxo-mediada da artéria braquial) em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia (PE), *diabetes mellitus* gestacional (DMG), e em gestantes sem intercorrências (controle), utilizando-se aparelho de ultrassonografia com *Doppler* colorido.

PE = Pré-eclâmpsia; DMG = *Diabetes mellitus* gestacional.

Foi executado um teste do qui-quadrado para comparar a proporção de testes alterados. Essa comparação foi feita de dois em dois grupos, ou seja: controle versus PE, controle versus DMG e PE versus DMG.

Comparando-se o grupo-controle com o grupo de pacientes com PE, foi constatado que a maioria (83,3%) das pacientes com PE não apresentou FMD considerada normal após a compressão exercida pelo manguito do esfigmomanômetro, enquanto no grupo de gestantes sem intercorrências apenas 15,8% não apresentaram a dilatação adequada da artéria braquial (TABELA 3). A diferença dos percentuais entre os grupos foi estatisticamente significativa ($P < 0,05$).

TABELA 3 – Resultados da comparação da Dilatação Fluxo-mediada (FMD) da artéria braquial entre os grupos de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia e de gestantes sem intercorrências (controle).

Resultado FMD	Grupos				p-valor
	Controle		PE		
	n	%	n	%	
Alterado	3	15,8	35	83,3	0,000
Normal	16	84,2	7	16,7	0,000
Total	19	100,0	42	100,0	-

PE = Pré-eclâmpsia

Em relação às pacientes com DMG, também se observou que a maioria (57,9%) não apresentou FMD considerada normal após a compressão exercida pelo manguito do esfigmomanômetro, enquanto no grupo de gestantes sem intercorrências apenas 15,8% não apresentaram a dilatação adequada da artéria braquial (TABELA 4). A diferença dos percentuais entre os grupos foi estatisticamente significativa ($P < 0,05$).

TABELA 4 – Resultados da comparação dos valores de Dilatação Fluxo-mediada (FMD) da artéria braquial entre os grupos de gestantes portadoras de diabetes mellitus gestacional e de gestantes sem intercorrências (controle).

Resultado FMD	Grupos				p-valor
	Controle		DMG		
	n	%	N	%	
Alterado	3	15,8	11	57,9	0,019
Normal	16	84,2	8	42,1	0,019
Total	19	100,0	19	100,0	-

DMG = Diabetes mellitus gestacional

Os resultados da FMD na comparação entre o grupo de pacientes com PE e o de pacientes com DMG demonstraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois, apesar de o grupo com PE ser mais comprometido. Nenhum deles apresentou dilatação adequada da artéria braquial (TABELA 5).

TABELA 5 – Comparação dos resultados da Dilatação Fluxo-mediada (FMD) da artéria braquial entre os grupos de pré-eclâmpsia e de *diabetes mellitus* gestacional.

Resultado FMD	Grupos				p-valor
	PE		DMG		
	n	%	n	%	
Alterado	35	83,3	11	57,9	0,070
Normal	7	16,7	8	42,1	0,070
Total	42	100,0	19	100,0	-

PE = Pré-eclâmpsia; DMG = *Diabetes mellitus* gestacional

5.2 RESULTADOS – FORMA CONTÍNUA

Além da análise estatística descrita acima de forma categorizada, foi realizada uma análise contínua. Para se testarem diferenças entre as médias dos três grupos independentes (PE, DMG e controle) em um único teste, foi usado o teste de Kruskal-Wallis.

A hipótese a ser testada foi a de que os três grupos tinham FMD semelhantes. Quando o p-valor encontrado foi menor que 0,050, rejeitou-se essa hipótese, ou seja, pelo menos um dos grupos era diferente dos demais.

A comparação entre os resultados da FMD dos grupos de gestantes portadoras de PE, de DMG e de gestantes sem intercorrências realizada através do teste de Kruskal-Wallis mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos (TABELA 6).

TABELA 6 – Resultados dos testes de comparação entre as médias dos valores de Dilatação Fluxo-mediada da artéria braquial entre os grupos de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia (PE), de *diabetes mellitus* gestacional (DMG) e de gestantes sem intercorrências (controle).

Grupos	Resultados do teste de Kruskal-Wallis	
	Postos médios	p-valor
Controle	63,24	
PE	29,12	0,000*
DMG	42,92	

Apesar de o teste de Kruskal-Wallis declarar diferença estatisticamente significativa da FMD entre os grupos, isso não indica quais os que diferem entre si. Para identificar onde há diferença, foi utilizado o teste de Dunn, através do software BioEstat 5.0.

TABELA 7 – Comparações entre os grupos de acordo com a variável média dos valores de Dilatação Fluxo-mediada da artéria braquial em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, *diabetes mellitus* gestacional e em gestantes sem intercorrências (controle).

Comparações (Método de Dunn)	Diferença entre os postos	Significância
Controle x PE	34,12	< 0,050
Controle x DMG	20,32	< 0,050
PE x DMG	13,80	NS

PE = Pré-eclâmpsia; DMG = *Diabetes mellitus* gestacional

Analisando-se a TABELA 7, observa-se claramente que o grupo-controle difere dos demais, pois todos os cruzamentos dele com os outros dois foram estatisticamente significativos em relação aos resultados das médias dos valores obtidos da FMD. As pacientes dos grupos com PE ou DMG não apresentaram intensidade de FMD da artéria braquial igual à do grupo de pacientes sem intercorrências. Já no cruzamento entre os grupos PE x DMG não houve diferença estatisticamente significativa, uma vez que esses dois grupos na realidade representam um grupo único de pacientes com presumida disfunção endotelial. Por

essa razão optou-se por realizar a análise de mais uma forma, comparando-se o grupo-controle com o grupo com lesão endotelial presumida (PE mais DMG).

5.3 RESULTADOS – CONTROLE X LESÃO ENDOTELIAL (PE E DMG)

A TABELA 8 mostra a caracterização da amostra quando foram considerados apenas dois grupos: PE mais DMG e grupo-controle. A média da FMD foi de 17,55% no grupo controle e de 6,55% no grupo constituído de pacientes com lesão endotelial presumida (PE mais DMG).

TABELA 8 – Avaliação dos diâmetros da artéria braquial antes e após a compressão exercida pelo manguito do esfigmomanômetro (Dilatação Fluxo-mediada da artéria braquial) em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia e de *diabetes mellitus* gestacional versus gestantes sem intercorrências (controle), utilizando-se aparelho de ultrassonografia com *Doppler* colorido.

Grupos	Variáveis	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	Desvio-padrão
Controle	Diâmetro inicial(mm)	2,60	3,83	3,10	3,14	0,41
	Diâmetro final(mm)	2,60	4,60	3,60	3,65	0,52
	FMD(%)	0,00	35,71	16,13	17,55	8,35
PE+DMG	Diâmetro inicial(mm)	1,80	5,20	3,30	3,45	0,67
	Diâmetro final(mm)	1,70	5,80	3,60	3,62	0,70
	FMD(%)	0,00	23,33	6,45	6,55	5,33
Total	Diâmetro inicial(mm)	1,80	5,20	3,26	3,37	0,63
	Diâmetro final(mm)	1,70	5,80	3,60	3,63	0,66
	FMD(%)	0,00	35,71	7,88	9,16	7,72

PE = Pré-eclâmpsia; DMG = *Diabetes mellitus* gestacional, FMD = Dilatação fluxo-mediada

Mais uma vez, os dados foram avaliados de forma categorizada e contínua.

5.3.1 Resultados – Controle x Lesão Endotelial (PE mais DMG) – Forma Categorizada

Foi executado um teste do qui-quadrado para a comparação de duas proporções (a partir de amostras independentes, os dois grupos), expressas em porcentagem. A FIGURA 4 mostra que o percentual de exames alterados apresentou diferença significativa entre os grupos, comprovando que o grupo com lesão endotelial presumida (PE mais DMG) apresentou mais exames alterados (75,4%) do que o grupo-controle (15,8%) com $p = 0,00$.

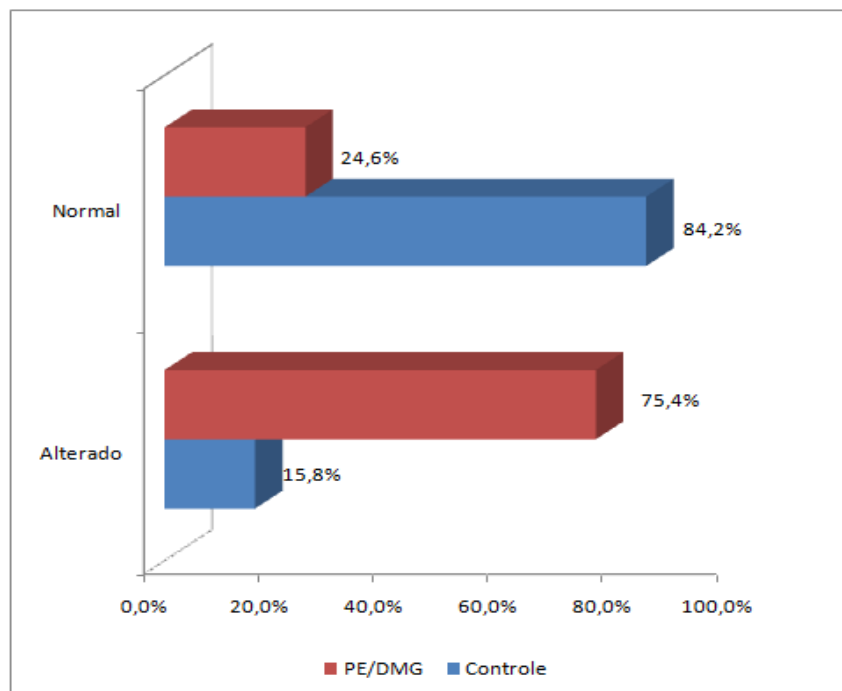


FIGURA 4 – Porcentagens de teste normal x teste alterado da avaliação dos diâmetros da artéria braquial antes e após a compressão exercida pelo manguito do esfigmomanômetro (Dilatação Fluxo-mediada da artéria braquial) em gestantes portadoras de lesão endotelial presumida (PE mais DMG) comparadas com gestantes sem intercorrências (controle), utilizando-se aparelho de ultrassonografia com *Doppler* colorido.

PE/DMG = Pré-eclâmpsia/*Diabetes mellitus* gestacional; $p = 0,00$

5.3.2 Resultados – Controle x Lesão Endotelial (PE e DMG) – Forma Contínua

O teste de Mann-Whitney foi utilizado para a comparação entre as médias de dois grupos (PE mais DMG versus controle). A hipótese a ser testada foi a de que os grupos têm FMD semelhantes. Quando o valor de p é menor que 0,05, rejeita-se essa hipótese, ou seja, há diferença entre os grupos. Observa-se na TABELA 9 resultado estatisticamente significativo, ou seja, foi encontrada diferença entre os grupos: o grupo-controle apresenta maior valor de FMD, confirmando o resultado dos testes anteriores.

TABELA 9 – Resultados dos testes de comparação entre os grupos controle versus grupo de pacientes com pré-eclâmpsia (PE) e pacientes com *diabetes mellitus* gestacional (DMG) associados.

Grupos	Resultados do teste de Mann-Whitney	
	Postos médios	p-valor
Controle	47,97	0,000*
PE/DMG	23,32	

6 DISCUSSÃO

Desde que Furchgot e Zawadzki (1980) perceberam a importância que o endotélio tem no relaxamento vascular e na fisiologia cardiovascular, muito se estudou sobre a disfunção dessas células, demonstrando-se que o relaxamento endotelial está prejudicado em pacientes com doenças vasculares. Foram as publicações iniciais da área de Cardiologia que abriram espaço e instigaram pesquisadores das mais diversas especialidades a comprovar a disfunção endotelial também nas doenças relacionadas às suas respectivas áreas de atuação.

Em relação às doenças obstétricas, a participação importante do endotélio já está bem estabelecida na PE. Muitos estudos já foram publicados, demonstrando que a disfunção endotelial que se segue ao desenvolvimento anormal do leito placentário participa de forma relevante nas manifestações clínicas e nas complicações da PE. Roberts e outros (1989) descreveram que na PE ocorre aumento da sensibilidade a agentes vasopressores e ativação da cascata da coagulação antes mesmo que a doença se manifeste. A injúria ao endotélio reduz a síntese de vasodilatadores, aumenta a produção de vasoconstritores, prejudica a síntese de anticoagulantes endógenos e aumenta a produção de substâncias pró-coagulantes (ROBERTS et al., 1989). O conhecimento atual é de que a PE parece iniciar-se na placenta tendo o endotélio materno como órgão-alvo.

Não há dúvidas de que a lesão endotelial é marcante também no *diabetes mellitus* (DE VRIESE et al., 2000; SAVVIDOU; GEERTS; NICOLAIDES, 2002). A disfunção endotelial nessa doença é caracterizada por alterações na proliferação celular, na função de barreira do endotélio, na capacidade de adesão das células circulantes e na sensibilidade à apoptose. Existem evidências suficientes de que a disfunção endotelial está intimamente ligada ao desenvolvimento de retinopatia, nefropatia e aterosclerose no *diabetes mellitus* (VAN DEN OEVER et al., 2010). Em relação ao DMG, apesar de as publicações serem mais escassas e os mecanismos envolvidos estarem menos elucidados, a participação da disfunção endotelial é demonstrada através de uma ação menor do NO, provavelmente ocasionada pelo desequilíbrio entre sua produção e sua biodisponibilidade, de uma remoção anormal de adenosina extracelular pelo endotélio do feto e do aumento do estresse oxidativo (WESTERMEIER et al., 2009; STANLEY et al., 2010). Uma questão levantada pela

literatura é se a disfunção endotelial encontrada em pacientes com DMG já existia antes do diagnóstico dessa doença ou se teria sido desenvolvida durante a gestação (STANLEY et al., 2010).

Portanto, o conhecimento da fisiologia atual apresenta evidências da participação da lesão endotelial tanto na PE quanto no DMG. As dificuldades em demonstrar provas diretas dessa disfunção devem-se à inexistência de um método direto de avaliação da função endotelial em humanos.

Nenhum método já estudado, como a dosagem de marcadores de angiogênese ou de moléculas de adesão na PE, se mostrou eficaz em prever de forma isolada todas as manifestações dessa doença e em identificá-la nas fases mais precoces. Por esse motivo, uma nova estratégia é necessária para se associar aos marcadores bioquímicos e buscar o diagnóstico da PE no início de seu desenvolvimento (SWELLAM et al., 2009).

O uso da FMD como um método de avaliação do endotélio mostra-se animador e promissor por ser barato, seguro, não invasivo e de fácil acesso. Entretanto, essa técnica ainda não está bem difundida nem bem padronizada na literatura, motivo pelo qual se tentou demonstrar sua eficácia e também estimular novas pesquisas que finalmente levem à sua padronização.

A primeira publicação que demonstrou sistematicamente alterações fluxo-mediadas em artérias de grande calibre em humanos foi a de Anderson e Mark, que realizaram o teste da FMD da braquial em 23 homens e seis mulheres e mostraram dilatações significativas da artéria após uma compressão de dez minutos com o esfigmomanômetro (ANDERSON; MARK, 1989). A partir desse trabalho inicial, a maioria das publicações vem da área da Cardiologia e demonstrou que uma dilatação importante da braquial significa que a função endotelial está preservada, enquanto uma dilatação insuficiente representa uma disfunção do endotélio (SORENSEN et al., 1994; JOANNIDES et al., 1995; CORRETTI et al., 2002; SAVVIDOU et al., 2003).

Vários trabalhos sobre o uso da FMD em gestantes já foram publicados, incluindo estudos longitudinais, como o de Dørup, Skajaa e Sørensen (1999), que avaliaram gestantes sem intercorrências e encontraram um aumento significativo da FMD da braquial nessas pacientes, quando comparadas às de um grupo-controle

formado por mulheres que não estavam grávidas. Por outro lado, o estudo de Quinton, Cook e Peek (2007), que acompanharam gestantes e realizaram o teste da FMD em cinco momentos distintos, incluindo gestação e pós-parto, mostrou resultados diferentes, já que não houve aumento significativo da FMD até o terceiro trimestre gestacional e, após esse período, apontou queda da FMD.

Em relação à PE, já existem estudos publicados que mostraram uma diminuição da FMD na comparação com resultados encontrados em gestantes normotensas (YOSHIDA et al., 2000). Brandão e outros (2011), em experimento do Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG, observaram que a FMD esteve significativamente alterada em pacientes portadoras de pré-eclâmpsia, comparativamente com gestantes normotensas. Existem também publicações nas quais a FMD foi realizada em pacientes de risco para PE com o objetivo de avaliar se essa técnica seria capaz de predizer o aparecimento dessa desordem hipertensiva. Savvidou e outros (2003) realizaram o teste da FMD em pacientes com idade gestacional que variou de 23 a 25 semanas e as acompanharam para verificar o aparecimento da PE. Os resultados mostraram que as pacientes diagnosticadas com PE tinham apresentado resultado de FMD significativamente menor do que aquelas que não manifestaram a doença. A conclusão foi de que a função endotelial estava prejudicada nas mulheres que posteriormente apresentariam a PE e que essa disfunção endotelial ocorre antes do aparecimento das manifestações clínicas (SAVVIDOU et al., 2003). Esses achados foram corroborados pelo estudo de García e outros (2007), no qual 508 pacientes foram submetidas ao teste da FMD antes da trigésima semana de gestação, e o resultado demonstrou que a FMD estava diminuída de forma significativa nas pacientes que posteriormente manifestariam a PE .

Outra possibilidade é de as alterações no endotélio persistirem nas mulheres que apresentaram PE mesmo após o parto, como mostrou o estudo de Pàez e outros (2009), no qual o teste da FMD realizado pós-parto se manteve alterado nas mulheres que tiveram PE. Esse estudo fortalece a ideia de que o passado de PE é capaz de aumentar o risco cardiovascular materno e a mortalidade tardia nas mulheres que tiveram essa intercorrência durante a gestação, através da persistência de lesão endotelial.

Como já exposto na revisão da literatura, os resultados da FMD encontrados nos estudos já publicados variam muito, mesmo quando é avaliada a mesma população. Essas variações podem ser consequência tanto da técnica do exame (o local de posicionamento do manguito, o tempo de oclusão, a resolução do transdutor, a experiência do ultrassonografista e a variabilidade intraindividual), quanto de diferentes características de cada indivíduo que compõe aquela população (sexo, idade, índice de massa corporal e presença de fatores de risco cardiovasculares) (BOTS et al., 2005).

No presente estudo, o exame da FMD foi realizado por um único examinador, com o objetivo de eliminar as diferenças de medida interobservador. A técnica utilizada, que já foi descrita anteriormente, está detalhada para que permita comparação com outros estudos e colabore com a padronização do exame.

O ponto de corte para o teste da FMD foi inicialmente aquele empregado em Cardiologia e seria considerado alterado quando não houvesse dilatação superior a 10% (QUYYUMI, 2003). No entanto, como esses estudos foram realizados em pacientes que não tinham a vasodilatação da gestação, a conclusão é de que esse valor pode não ser o mais adequado para essa situação.

A gestação normal é marcada por um aumento da vasodilatação mediada pelo endotélio, com resposta prejudicada aos vasoconstritores e possível aumento da FMD, de modo que seriam interessantes novos estudos para estabelecer qual é o ponto de corte ideal para paciente grávida que apresenta alterações importantes na hemodinâmica, como a vasodilatação periférica e o aumento do volume plasmático. Como já descrito anteriormente, o volume sanguíneo e o débito cardíaco aumentam 40 a 50% no primeiro semestre gestacional. Além disso, há uma queda simultânea da pressão arterial, que começa no primeiro trimestre, atinge um nadir no meio da gestação e retorna ao nível pré-gestacional próximo ao parto (GILLHAM; KENNY; BAKER, 2003).

O teste da FMD é capaz de medir a variação no diâmetro da artéria antes e após o estímulo decorrente da compressão com o manguito de esfigmomanômetro. Habitualmente descreve-se o diâmetro antes e depois, e os resultados são considerados através da variação percentual observada nesse procedimento. Contudo, existem na literatura estudos que apontam que a melhor maneira de

considerar essa variação seria registrar o valor do diâmetro basal, o valor absoluto da modificação e o valor percentual (CORRETTI et al., 2002; BOTS et al. 2005).

A proposta aqui apresentada foi de fazer a análise estatística de duas formas distintas: uma delas, pela variação percentual com o ponto de corte de 10% (variáveis categóricas), considerando-se normal quando a dilatação é de pelo menos 10% da artéria braquial e alterada quando a dilatação é menor que esse valor; a outra foi de forma contínua, comparando-se os valores médios da FMD da artéria braquial em cada grupo, com o objetivo de mostrar que os resultados dos testes foram realmente diferentes entre os grupos estudados.

Com as duas análises distintas, resultados semelhantes obtidos mostraram que, no grupo de pacientes com PE e DMG, a dilatação da artéria braquial foi significativamente menor, quando separadamente comparados com os do grupo-controle.

Como o teste da FMD avalia o endotélio e não uma doença específica e já que os testes preliminares mostraram não haver diferença estatisticamente significativa entre os grupos de pacientes com PE e com DMG, foi realizada uma análise incluindo no mesmo grupo as pacientes com PE e DMG (lesão endotelial presumida) e comparando-as com as do grupo-controle. Os resultados novamente mostraram diferença significativa entre os dois grupos.

Os resultados expostos mostraram que, no presente trabalho, o teste da FMD utilizado durante a gestação foi capaz de reconhecer os casos de lesão endotelial presumidos a partir de doenças bem definidas, como a PE e o DMG. Ressaltando-se que isso aconteceu tanto quando consideramos o teste alterado quando a FMD era menor do que 10%, quanto quando consideramos os valores médios da FMD entre os grupos.

No entanto, estudos futuros com maior número de pacientes são necessários para confirmar os resultados encontrados neste trabalho. O banco de dados que serviu de base para este estudo foi composto por 80 gestantes originadas da demanda espontânea de pacientes admitidas na Maternidade do Hospital das Clínicas da UFMG, no período de julho de 2008 a agosto de 2009. A prevalência de pacientes com alguma doença na maternidade do HC - UFMG é alta, devido ao fato de a maternidade ser de referência em gestação de alto risco. Por isso, a inserção

de pacientes hípidas no banco de dados foi uma dificuldade encontrada. Apesar do tamanho reduzido do grupo-controle, as análises mostraram que os três grupos foram estatisticamente homogêneos em sua caracterização, e os resultados apontaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

Seriam também interessantes estudos que empregassem o método da FMD na comparação do comportamento da função endotelial de pacientes portadoras de *diabetes mellitus* pré-gestacional em relação ao de pacientes que desenvolveram *diabetes mellitus* gestacional, com o objetivo de avaliar se as portadoras da doença antes da gestação apresentavam diferenças mais acentuadas.

Outro ponto que ainda precisa ser consolidado na literatura seria relativo ao melhor local de compressão na realização da FMD, já que parece existir diferença no percentual de dilatação esperado quando a compressão é feita no antebraço ou no braço (BOTS et al. 2005). O local de compressão utilizado neste estudo, ou seja, acima da fossa antecubital, também foi o mais utilizado para a realização da FMD da artéria braquial nos estudos encontrados na literatura, segundo a revisão publicada por Bots e outros (2005). No entanto, faz parte da padronização do teste estabelecer o local mais adequado para realizá-lo, mas isso ainda não está totalmente estabelecido, necessitando de mais estudos.

Não foi encontrado na literatura estudo com desenho semelhante ao aqui apresentado. Os resultados obtidos mostram a existência de lesão endotelial em pacientes portadoras de PE, através dos valores de FMD reduzidos nesse grupo, fato já bem estabelecido na literatura médica e confirmado nos achados desta investigação.

As observações também sugerem a presença de lesão endotelial em gestantes portadoras de DMG, que, devido a um mecanismo fisiopatológico distinto, perdem a capacidade de vasodilatação fundamental entre as adaptações gestacionais.

O insucesso da gestação frequentemente observado em mulheres portadoras dessas duas intercorrências estudadas pode ser devido à ausência da adequação da função endotelial após o processo de placentação.

Embora ainda não existam dados suficientes que suportem o uso da FMD como teste de prognóstico de pacientes portadoras de PE ou DMG, este estudo

procura dar um passo inicial e estimular novas pesquisas que possam viabilizar o uso dessa técnica na prática clínica diária.

7 CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados, pode-se concluir:

- As gestantes portadoras de pré-eclâmpsia e as portadoras de *diabetes mellitus* gestacional apresentaram FMD da artéria braquial significativamente menor que as do grupo-controle.

- A FMD da artéria braquial foi menor no grupo de gestantes com lesão endotelial presumida (PE mais DMG) em relação ao grupo-controle, e essa diferença foi significativa.

REFERÊNCIAS

ABASSI, Z. A. et al. The intrarenal endothelin system and hypertension. **News Physiol. Sci.**, Bethesda, v. 16, p. 152-156, Aug. 2001.

ACOSTA, J. C. et al. Gestational diabetes mellitus alters maternal and neonatal circulating endothelial progenitor cell subsets. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 204, n. 3, p. 254.e8-254.e15, Mar. 2011.

ANASTASIOU, E. et al. Impaired endothelium-dependent vasodilatation in women with previous gestational diabetes. **Diabetes Care**, New York, v. 21, n. 12, p. 2.111-2.115, Dec. 1998.

ANDERSON, E. A.; MARK, A. L. Flow-mediated and reflex changes in large peripheral artery tone in humans. **Circulation**, Dallas, v. 79, n. 1, p. 93-100, 1989.

BABAR, G. S et al. Impaired endothelial function in preadolescent children with type 1 diabetes. **Diabetes Care**, New York, v. 34, n. 3, p. 681-685, Mar. 2011.

BATLOUNI, M. Endotélio e hipertensão arterial. **Rev. Bras. Hipertens.**, Ribeirão Preto, v. 8, p. 328-338, 2001.

BOTS, M. L. et al. Assessment of flow-mediated vasodilatation (FMD) of the brachial artery: effects of technical aspects of the FMD measurement on the FMD response. **Eur. Heart. J.**, London, v. 26, n. 4, p. 363-368, Feb. 2005.

BRANDÃO, A. H. F. et al. Aplicação prática da dilatação fluxo-mediada da artéria braquial em ginecologia e obstetrícia. **Femina.**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 5, p. 239-243, maio 2010.

BRANDÃO, A. H. F. et al. Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial como método de avaliação da função endotelial na pré-eclâmpsia e em gestantes normotensas. **Rev. Med. Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 21, n. 1, p. 9-13, 2011.

BROOK, R. D. et al. Determinants of vascular function in patients with chronic gout. **J. Clin. Hypertens.**, Greenwich, v. 13, n. 3, p. 178-188, Mar. 2011.

BROWN, M. et al. Nitric oxide secretion in normal and hypertensive pregnancies. **Hypertension Pregnancy**, Zug, v. 14, p. 85-92, 1995.

CALLOW, A. D. Endothelial dysfunction in atherosclerosis. In: CATRAVAS, J, D.; CALLOW, A. D.; RYAN, U. S. (Ed.). **Vascular endothelium: mechanisms of cell signaling**. Knossos: IOS Press, 1999. p. 81-88.

CALVER, A.; COLLIER, J.; VALLANCE, P. Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. **J. Clin. Invest.**, New Haven, v. 90, n. 6, p. 2.548-2.554. Dec. 1992.

CANBAKAN, B. et al. Circulating endothelial cells in preeclampsia. **J. Hum. Hypertens.**, London, v. 21, n. 7, p. 558-563, July 2007.

CARVALHO, M. H. et al. Hipertensão arterial: o endotélio e suas múltiplas funções. **Rev. Bras. Hipertens.**, Ribeirão Preto, v. 8, p. 76-88, 2001.

CATALANO, P. M. et al. Gestational diabetes and insulin resistance: role in short- and long-term implications for mother and fetus. **J. Nutr.**, Philadelphia, v. 133, n. 5, p. S1.674-1.683, May 2003. Suppl 2.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **National diabetes fact sheet**. 2007. Disponível em: <http://www.cdc.gov/diabetes/pubs/pdf/ndfs_2007.pdf>. Acesso em: 19 Feb. 2011.

CELERMAJER, D. S. et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. **Lancet**, London, v. 340, n. 8.828, p. 1.111-1.115, Nov. 1992.

CELERMAJER, D. S. et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. **Circulation**, Dallas, v. 88 p. 2.149-2.155, 1993.

CELERMAJER, D. S. et al. Passive smoking and impaired endothelium-dependent arterial dilatation in healthy young adults. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 334, n. 3, p. 150-154, Jan. 1996.

CHIRAYATH, H.H. et al. Endothelial dysfunction in myometrial arteries of women with gestational diabetes. **Diabetes Res Clin Pract.**, Amsterdam, v.89, n.2, p. 134-140, Aug. 2010.

COHEN, R. A. The role of nitric oxide and other endothelium-derived vasoactive substances in vascular disease. **Prog. Cardiovasc. Dis.**, Philadelphia, v. 38, n. 2, p. 105-128, Sept./Oct. 1995.

COOKE, C. M.; DAVIDGE, S. T. Pregnancy-induced alterations of vascular function in mouse mesenteric and uterine arteries. **Biology of Reproduction**, New York, v. 68, p. 1.072-1.077, 2003.

CORRETTI, M. C. *et al.* Guidelines for the ultrasound assesment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery. **J. Am. Coll. Cardiol.**, New York, v. 39, n. 2, p. 257-65, Jan. 2002.

CRANDALL, M. E.; KEVE, T. M.; MCLAUGHLIN, M. K. Characterization of norepinephrine sensitivity in the maternal splanchnic circulation during pregnancy. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 162, n. 5, p. 1.296-1.301, 1990.

CUDIHY, D.; LEE, R. V. The pathophysiology of pre-eclampsia: current clinical concepts. **J. Obstet. Gynaecol.**, Bristol, v. 29, n. 7, p. 576-582, Oct. 2009.

CYPIENĖ, A. et al. The influence of mean blood pressure on arterial stiffening and endothelial dysfunction in women with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. **Medicina**, Kaunas, v. 46, n. 8, p. 522-530, 2010.

DABELEA, D. et al. Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus (GDM) over time and by birth cohort. **Diabetes Care**, New York, v. 28, p. 579-584, 2005.

DE CATERINA, R. Endothelial dysfunctions: common denominators in vascular disease. **Curr. Opin. Lipidol.**, London, v. 1, p. 9-23, Feb. 2000.

DECHEND, R. et al. Agonistic antibodies directed at the angiotensin II, AT1 receptor in preeclampsia. **J. Soc. Gynecol. Investig.**, New York, v. 13, n. 2, p. 79-86, Feb. 2006.

DENG, L. et al. Plasma levels of von Willebrand factor and fibronectin as markers of persisting endothelial damage in preeclampsia. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 84, n. 6, p. 941-945, 1994.

DE VRIESE, A. S. et al. Endothelial dysfunction in diabetes. **Br. J. Pharmacol.**, London, v. 130, n. 5, p. 963-974, July 2000.

DOLLBERG, S.; BROCKMAN, D. E.; MYATT, L. Nitric oxide synthase activity in umbilical and placental vascular tissue of gestational diabetic pregnancies. **Gynecol. Obstet. Invest.**, New York, v. 44, n. 3, p. 177-181, 1997.

DØRUP, I.; SKAJAA, K.; SØRENSEN, K. E. Normal pregnancy is associated with enhanced endothelium-dependent flow-mediated vasodilation. **Am. J. Physiol.**, Washington, v. 276, n. Pt2, p. H821-825, Mar. 1999.

DUSSE, L. M. S.; VIEIRA, L. M.; CARVALHO, M. G. Avaliação da trombomodulina plasmática na doença hipertensiva específica da gravidez. **J. Bras. Patol.**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 3, p. 163-170, jul./set. 2001.

EIKEMO, H.; SELLEVOLD, O. F.; VIDEM, V. Markers for endothelial activation during open heart surgery. **Ann. Thorac. Surg.**, Boston, v. 77, n. 1, p. 214-219, Jan. 2004.

FRIJNS, C.J. et al. Soluble adhesion molecules reflect endothelial cell activation in ischemic stroke and in carotid atherosclerosis. **Stroke**, New York, v. 28, n. 11, p. 2.214-2.218, Nov. 1997.

FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, London, v. 288, n. 5.789, p. 373-376, Nov. 1980.

GARCÍA, R. G. et al. Raised C-reactive protein and impaired flow-mediated vasodilation precede the development of preeclampsia. **Am. J. Hypertens.**, New York, v. 20, n. 1, p. 98-103, Jan. 2007.

GERBER, R. T.; ANWAR, M. A.; POSTON, L. Enhanced acetylcholine induced relaxation in small mesenteric arteries from pregnant rats: an important role for endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF). **Br. J. Pharmacol.**, London, v. 125, n. 3, p. 455-460, Oct. 1998.

GILBERT, J. S. et al. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: linking placental ischemia with endothelial dysfunction. **Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.**, Bethesda, v. 294, n. 2, p. 541-550, Feb. 2008.

GILLHAM, J. C.; KENNY, L. C.; BAKER P. N. An overview of endothelium-derived hyperpolarising factor (EDHF) in normal and compromised pregnancies. **Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.**, Amsterdam, v. 109, n. 1, p. 2-7, July 2003.

GRANGER, J. P. et al. Pathophysiology of preeclampsia: linking placental ischemia/hypoxia with microvascular dysfunction. **Microcirculation**, New York, v. 9, n. 3, p. 147-160, July, 2002.

GRILL, S. et al. Potential markers of preeclampsia - a review. **Reprod. Biol. Endocrinol.**, London, v. 14, p. 7-70, July, 2009.

GRUNDMANN, M. et al. Circulating endothelial cells: a marker of vascular damage in patients with preeclampsia. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 198, n. 3, p. 317.e1-5, Mar. 2008.

HALLER, H. et al. Endothelial adhesion molecules and leukocyte integrins in preeclamptic patients. **Hypertension**, Dallas, v. 29, n. Pt 2, p. 291-296, Jan. 1997.

HERSE, F. et al. AT1-receptor autoantibodies and uteroplacental RAS in pregnancy and pre-eclampsia. **J. Mol. Med.**, Berlin, v. 86, n. 6, p. 697-703, June 2008.

HERSE, F. et al. Prevalence of agonistic autoantibodies against the angiotensin II type 1 receptor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 in a gestational age-matched case study. **Hypertension**, Dallas, v. 53, n. 2, p. 393-398, Feb. 2009.

HUNG, T. H. et al. Secretion of tumor necrosis factor- α from human placental tissues induced by hypoxia-reoxygenation causes endothelial cell activation in vitro: a potential mediator of the inflammatory response in preeclampsia. **Am. J. Pathol.**, Philadelphia, v. 164, n. 3, p. 1.049-1.061, Mar. 2004.

JOANNIDES, R. et al. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. **Circulation**, Dallas, v. 91, p. 1.314-1.319, 1995.

KATO, G. J. et al. Levels of soluble endothelium-derived adhesion molecules in patients with sickle cell disease are associated with pulmonary hypertension, organ dysfunction, and mortality. **Br. J. Haematol.**, Oxford, v. 130, n. 6, p. 943-953, Sept. 2005.

KHALIL, R. A.; GRANGER, J. P. Vascular mechanisms of increased arterial pressure in preeclampsia: lessons from animal models. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, Bethesda, v. 283, n. 1, p. R29-45, July 2002 .

KIM, S. Y. et al. Maternal serum levels of VCAM-1, ICAM-1 and E-selectin in preeclampsia. **J. Korean Med. Sci.**, Seoul, v. 19, n. 5, p. 688-692, Oct. 2004.

KLUZ, J. et al. Circulating endothelial cells, endothelial apoptosis and soluble markers of endothelial dysfunction in patients with systemic lupus erythematosus-related vasculitis. **Int. Angiol.**, Turin, v. 28, n. 3, p. 192-201, June 2009.

KUTLUGÜN, A, A. et al. Effects of lowering dialysate sodium on flow-mediated dilatation in patients with chronic kidney disease. **Nephrol. Dial. Transplant.**, Berlin, 2011 Mar. 18.

LAWRENCE, J. M. et al. Trends in the prevalence of preexisting diabetes and gestational diabetes mellitus among a racially/ethnically diverse population of pregnant women, 1999-2005. **Diabetes Care**, New York, v. 31, n. 899-904, 2008.

LEVINE, R. J. et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 350, n. 7, p. 672-683, Feb. 2004.

LEVINE, R. J. et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 355, n. 10, p. 992-1.005, Sept. 2006.

LOCKHART, C. J. et al. Impaired flow-mediated dilatation response in uncomplicated Type 1 diabetes mellitus: influence of shear stress and microvascular reactivity. **Clin. Sci.**, London, v. 121, n. 3, p. 129-139, Aug. 2011.

LUKSHA, L.; NISELL, H.; KUBLICKIENE, K. The mechanism of EDHF-mediated responses in subcutaneous small arteries from healthy pregnant women. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, Bethesda, v. 286, n. 6, p. 1.102-1.119, June 2004.

MAYNARD, S. E. et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. **J. Clin. Invest.**, New Haven, v. 111, n. 5, p. 649-658, Mar. 2003.

MOORE, T. R. **Diabetes mellitus and pregnancy**. 2010. Disponível em: <<http://emedicine.medscape.com/article/127547-overview>>. Acesso em: 19 Mar. 2011.

MORRIS, N. H. et al. Exhaled nitric oxide concentration and amniotic fluid nitrite concentration during pregnancy. **Eur. J. Clin. Invest.**, Berlin, v. 25, p. 138-141, 1995.

MULLEN, M.J. et al. Heterogenous nature of flow-mediated dilatation in human conduit arteries in vivo: relevance to endothelial dysfunction in hypercholesterolemia. **Circ Res.**, Baltimore, v.88, n. 2, p. 145-151, Feb. 2001.

MYATT, L.; WEBSTER R, P. Vascular biology of preeclampsia. **J. Thromb. Haemost.**, Oxford, v. 7, n. 3, p. 375-384, Mar. 2009.

PÀEZ, O. et al. Parallel decrease in arterial distensibility and in endothelium-dependent dilatation in young women with a history of pre-eclampsia. **Clin. Exp. Hypertens.**, New York, v. 31, n. 7, p. 544-552, Oct. 2009.

PATEL, S.; CELERMAJER, D. S. Assessment of vascular disease using arterial flowmediated dilatation. **Pharmacol. Rep.**, Kraków, n. 58, p. S3-7, 2006. Suppl.

PECHÁNOVÁ, O.; SIMKO, F. The role of nitric oxide in the maintenance of vasoactive balance. **Physiol. Res.**, Praha, v. 56, p. S7-16, 2007. Suppl.

PHOCAS, I. et al. A comparative study of serum soluble vascular cell adhesion molecule-1 and soluble intercellular adhesion molecule-1 in preeclampsia. **J. Perinatol.**, Philadelphia, v. 20, n. 2, p. 114-119, Mar. 2000.

PLAYFORD, D. A.; WATTS, G. F. Special article: non-invasive measurement of endothelial function. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, Oxford, v. 25, n. 7-8, p. 640-643, July/Aug. 1998.

PLEINER, J. et al. Impaired vascular nitric oxide bioactivity in women with previous gestational diabetes. **Wien Klin. Wochenschr.**, Wien, v. 119, n. 15-16, p. 483-489, 2007.

POLLIOTTI, B. M. Second-trimester maternal serum placental growth factor and vascular endothelial growth factor for predicting severe, early-onset preeclampsia. **Obstet. Gynecol.**, New York, v. 101, n. 6, p. 1.266-1.274, June 2003.

PUDDU, P. et al. Endothelial dysfunction in hypertension. **Acta Cardiol.**, Bruxelles, v. 55, n. 4, p. 221-132, Aug. 2000.

PYKE, K. E.; TSCHAKOVSKY, M. E. The relationship between shear stress and flow-mediated dilatation: implications for the assessment of endothelial function. **J. Physiol.**, London, v. 568, n. Pt 2, p. 357-369, Oct. 2005.

QUINTON, A. E.; COOK, C. M.; PEEK, M. J. A longitudinal study using ultrasound to assess flow-mediated dilatation in normal human pregnancy. **Hypertens. Pregnancy.**, New York, v. 26, n. 3, p. 273-281, 2007.

QUYYUMI, A. A. Endothelial function in health and disease: new insights into the genesis of cardiovascular disease. **Am. J. Med.**, New York, v. 105, n. 1A, p. 32S-39S, 6 July 1998. Suppl. 1.

QUYYUMI, A. A. Prognostic value of endothelial function. **Am. J. Cardiol.**, New York, v. 91, n. 12A, p. 19H-24H, Jun. 2003.

REPORT of the national high blood pressure education program working group on high blood pressure in pregnancy. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 183, n. 1, p. S1-S22, July 2000.

ROBERTS, J. M. et al. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 161, n. 5, p. 1.200-1.204, Nov. 1989.

ROSSI, R. et al. Prognostic role of flow mediated dilatation and cardiac risk in postmenopausal women. **J. Am. Coll. Cardiol.**, New York, v. 5, n. 10, p. 997-1.002, 2008.

RYU, S. et al. Increased leukocyte adhesion to vascular endothelium in preeclampsia is inhibited by antioxidants. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 196, n. 4, p. 400-407, Apr. 2007.

SAVVIDOU, M. D.; GEERTS, L.; NICOLAIDES, K. H. Impaired vascular reactivity in pregnant women with insulin-dependent diabetes mellitus. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 186, n. 1, p. 84-88, Jan. 2002.

SAVVIDOU, M. D. et al. Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop preeclampsia. **Lancet**, London, v. 361, n. 9.368, p. 1.511-1.517, 2003.

SELIGMAN, S. P. et al. The role of nitric oxide in the pathogenesis of preeclampsia. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 171, p. 944-948, 1994.

SHIMIZU, S. Bradykinin induces generation of reactive oxygen species in bovine aortic endothelial cells. **Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.**, Westbury, v. 84, n. 3, p. 301-314, June 1994.

SIERRA-LAGUADO, J.; GARCIA, R. G.; LÓPEZ-JARAMILLO, P. Flow-mediated dilatation of the brachial artery in pregnancy. **Int. J. Gynecol. Obstet.**, New York, v. 93, n. 1, p. 60-61, 2006.

SORENSEN, K. E, et al. Impairment of endothelium-dependent dilation is an early event in children with familial hypercholesterolemia and is related to the lipoprotein(a) level. **J. Clin. Invest.**, New Haven, v. 93, p. 50-55, 1994.

SOYMAN, Z. et al. Serum paraoxonase 1 activity, asymmetric dimethylarginine levels, and brachial artery flow-mediated dilatation in women with polycystic ovary syndrome. **Fertil. Steril.**, New York, v. 95, n. 3, p. 1.067-1.072, Mar. 2011

STANLEY, J. L. et al. Previous gestational diabetes impairs long-term endothelial function in a mouse model of complicated pregnancy. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, Bethesda, v. 299, n. 3, p. R862-870, Sept. 2010.

STEHOUWER, C. D. et al. Endothelial dysfunction and pathogenesis of diabetic angiopathy. **Cardiovasc. Res.**, London, v. 34, n. 1, p. 55-68, Apr. 1997.

STEPAN, H. et al. New insights into the biology of preeclampsia. **Biol. Reprod.**, New York, v. 74, n. 5, p. 772-776, 2006.

SUZUKI, Y. J.; FORD, G.D. Superoxide stimulates IP₃-induced Ca²⁺ release from vascular smooth muscle sarcoplasmic reticulum. **Am. J. Physiol.**, Washington, v. 262, n. Pt 2, p. 114-116, Jan. 1992 .

SWELLAM, M. et al. Emerging role of endothelial and inflammatory markers in preeclampsia. **Dis. Markers**, Chichester, v. 26, n. 3, p. 127-133, 2009.

TIMMERMANS, P. B. et al. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. **Pharmacol. Rev.**, Baltimore, v. 45, n. 2, p. 205-251, June 1993.

VALTONEN, P. et al. Serum L-homoarginine concentration is elevated during normal pregnancy and is related to flow-mediated vasodilatation. **Circ. J.**, Kyoto, v. 72, n. 11, p. 1.879-1.884, Nov. 2008.

VAN DEN OEVER, I. A. et al. Endothelial dysfunction, inflammation, and apoptosis in diabetes mellitus. **Mediators Inflamm.**, Oxford, 2010, 2010:792393.

VLACHOPOULOS C, et al. Increased arterial stiffness and impaired endothelial function in nonalcoholic fatty liver disease: a pilot study. **Am. J. Hypertens.**, New York, v. 23, n. 11, p. 1.183-1.189, Nov. 2010.

WALLUKAT, G. et al. Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin AT1receptor. **J. Clin. Invest.**, New Haven, v. 103, n. 7, p. 945-952, Apr. 1999.

WEDEL, J. C. et al. Mechanisms underlying maternal venous adaptation in pregnancy. **Reprod. Sci.**, Thousand Oaks, v. 16, n. 6, p. 596-604, June 2009.

WESTERMEIER, F. et al. Equilibrative nucleoside transporters in fetal endothelial dysfunction in diabetes mellitus and hyperglycaemia. **Curr. Vasc. Pharmacol.**, Sharjah, v. 7, n. 4, p. 435-449, Oct. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications**: report of a WHO consultation. Geneva, 1999.

YINON, Y. et al. Vascular dysfunction in women with a history of preeclampsia and intrauterine growth restriction: insights into future vascular risk. **Circulation**, Dallas, v. 122, n. 18, p. 1.846-1.853, Nov. 2010.

YOSHIDA, A. et al. Flow-mediated vasodilation and plasma fibronectin levels in preeclampsia. **Hypertension**, Dallas, v. 36, n. 3, p. 400-404, Sept. 2000.

YOUNG, B. C.; LEVINE, R. J.; KARUMANCHI, S. A. Pathogenesis of preeclampsia. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, Palo Alto, v. 5, p. 173-192, 2010.

ZAWIEJSKA, A. et al. Maternal endothelial dysfunction and its association with abnormal fetal growth in diabetic pregnancy. **Diabet. Med.**, Chichester, v. 28, n. 6, p. 692-698, June 2011.

ZHOU, Y. et al. Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate: a strategy for successful endovascular invasion? **J. Clin. Invest.**, New Haven, v. 99, n. 9, p. 2.139-2.151, May 1997.

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e esclarecido

Correlação entre a Dilatação Fluxo Mediada da artéria braquial e os valores séricos maternos de VEGF, PIGF e sFlt-1 nas gestantes portadoras de pré-eclâmpsia.

- 1- A pré-eclâmpsia é uma doença grave na gestação, onde a pressão arterial se eleva, colocando em risco a mãe e o filho. Até o momento não se conhece exatamente como evitar o aparecimento da doença. Diversos estudos vêm sendo feitos na tentativa de entender porque a pré-eclâmpsia acontece em algumas gestantes e em determinados casos de forma grave.
- 2- A pré-eclâmpsia é marcada por uma alteração nos vasos do organismo, que pode ser avaliada por medida da dilatação dos vasos através do aparelho de ultra-som e por substâncias encontradas no sangue periférico.
- 3- Um exame chamado de Dilatação Fluxo Mediada (DILA) é capaz de avaliar a função e integridade do vaso nas gestantes com pré-eclâmpsia. O método consiste em apertar o braço com o manguito do aparelho de medir pressão arterial, por quatro minutos, e a seguir medir a dilatação do vasos através do aparelho de ultra-som. Esse exame não é invasivo, mais você poderá sentir um leve formigamento no braço que desaparecerá em poucos segundos, sem causar nenhum dano.
- 4- Algumas substâncias encontradas no sangue periférico, chamadas de marcadores de angiogênese, VEGF PIGF e sFlt-1, também podem refletirem as alterações nos vasos sanguíneos das gestantes com pré-eclâmpsia. Para isso é preciso coletar uma amostra de sangue para análise em laboratório.
- 5- A punção da veia do seu braço, para retirada de 10ml de sangue, pode provocar dor de leve intensidade e às vezes levar a formação de um pequeno hematoma (coloração arroxeadada) no local e muito raramente vermelhidão.
- 6- Esses dois exames não fazem parte da rotina do Hospital das Clínicas e você deve estar ciente que os objetivos estão ligados somente à pesquisa. O Centro de Medicina Fetal da UFMG é um importante centro de estudos, onde são desenvolvidas pesquisas que têm como objetivo aprimorar os métodos de diagnóstico da pré-eclâmpsia.
- 7- Não há vantagens diretas para você caso aceite a participar; e se você recusar, o seu tratamento no Hospital das Clínicas não será de forma alguma alterado. Seu nome ou do seu filho não serão divulgados em resultados e publicações e só os pesquisadores do CEMEFE terão acesso à seus dados.
- 8- Caso seja de seu interesse, os resultados estarão guardados com o pesquisador e lhe serão entregues assim que você solicitar.

- 9- Eu....., portadora de documento de identidade..... expedido pela....., estou ciente do que foi exposto acima e autorizo a realização do exame do DILA, bem como retirada de uma amostra de meu sangue para pesquisa. Participo voluntariamente deste estudo e estou ciente de que as amostras colhidas não trarão prejuízo à minha saúde ou do meu filho.

Assinatura da paciente: _____

Data:

Centro de Medicina Fetal –HC-UFMG – 3409-9422

Comitê de Ética em Pesquisa (COEP-UFMG): (31)3409-4592

Av. Antônio Carlos, 6627 Unidade Administrativa II, 2^o andar - Campus Pampulha.

Belo Horizonte MG – CEP: 31270-901

APÊNDICE B – Banco de dados

	IG	idade	Raça	G	P	A	Diâmetro Antes (mm)	Diâmetro Depois (mm)	FMD %	Resultado FMD	Doença
1	37	26	leuco	2	1	0	41.00	43.00	4	alterado	PE
2	35	30	leuco				38.00	44.00	15	normal	PE
3	35	31					51.00	58.00	13	normal	PE
4	34	16	faio	3	2	0	43.00	46.00	6	alterado	PE
5	27	41	leuco				52.00	52.00	0	alterado	PE
6	27	32	faio	2	0	1	41.00	45.30	10	normal	PE
7	33	42					31.00	31.00	0	alterado	PE
8	28	42	faio	3	2	1	43.00	37.00	0	alterado	PE
9	37	29	leuco	1	0	0	36.00	39.00	8	alterado	PE
10	34	42		1	0	0	40.00	41.00	2	alterado	PE
11	32	38	leuco	1	0	0	40.00	40.00	0	alterado	PE
12	29	29	melano				35.00	36.00	2	alterado	PE
13	36	25		3	1	1	29.00	23.00	0	alterado	PE
14	37	41	leuco				27.00	29.00	7	alterado	PE
15	33	14	leuco	1	0	0	29.00	28.00	0	alterado	PE
16	39	20	leuco	2	1	0	33.00	27.00	0	alterado	PE
17	37	14	leuco	1	0	0	40.00	39.00	0	alterado	PE
18	39	21					33.00	36.00	9	alterado	PE
19	35	35	leuco				39.00	41.00	5	alterado	PE
20	30	20	faio	1	0	0	34.00	37.00	8	alterado	PE
21	38	39	faio	6	5	0	43.00	43.00	0	alterado	PE
22	38	21	leuco	1	0	0	39.00	42.00	7	alterado	PE
23	37	31	melano	1	0	0	38.00	40.00	5	alterado	PE
24	36	20	melano	1	0	0	29.00	33.00	13	normal	PE
25	33	27		1	0	0	28.00	30.00	7	alterado	PE
26	30	24	faio	3	1	1	23.00	24.00	4	alterado	PE
27	26	39					38.00	38.00	0	alterado	PE
28	32	36	leuco	3	2	0	31.00	33.00	6	alterado	PE
29	38	29		3	1	1	36.00	36.00	0	alterado	PE
30	34	29	leuco	2	1	0	29.00	32.00	10	normal	PE
31	29	32		3	1	1	42.00	42.00	0	alterado	PE
32	25	20	melano				31.00	33.00	6	alterado	PE
33	34	39	faio	1	0	0	38.60	39.00	1	alterado	PE
34	34	49					25.30	27.30	7	alterado	PE
35	27	19		2	1	0	30.60	33.00	7	alterado	PE
36	32	40	leuco	3	2	0	47.30	50.30	6	alterado	PE
37	23	24					31.60	33.60	6	alterado	PE
38	30	27	leuco	2	1	0	36.00	40.40	12	normal	PE
39	35	19		1	0	0	47.00	41.00	0	alterado	PE

40	36	29	leuco				37.00	39.00	5	alterado	PE
41	32	30	faio				31.30	34.80	11	normal	PE
42	33	34	faio	2	1	0	32.30	35.30	9	alterado	PE
43	38	32	leuco	1	0	0	35.00	44.00	25	normal	não
44	25	25	leuco	4	3	0	28.00	32.00	14	normal	não
45	32	42	melano	2	1	0	28.00	32.00	14	normal	não
46	28	36		8	8	0	31.00	36.00	16	normal	não
47	33	20	leuco	1	0	0	31.00	26.00	0	alterado	não
48	28	39	faio	2	1	0	32.00	39.00	21	normal	não
49	36	19	leuco	1	0	0	34.00	41.00	20	normal	não
50	30	26	leuco				34.00	39.00	14	normal	não
51	28	35		3	2	0	38.00	46.00	21	normal	não
52	31	14	faio	1	0	0	28.00	38.00	35	normal	não
53	32	34	faio	3	2	0	29.00	34.00	17	normal	não
54	37	35		1	0	0	27.00	33.00	22	normal	não
55	30	24					38.30	42.70	11	normal	não
56	33	17	faio	3	2	1	26.00	29.30	12	normal	não
57	32	17	melano	1	0	0	38.30	40.70	6	alterado	não
58	32	26	melano	2	1	0	28.00	35.70	27	normal	não
59	34	28					33.60	39.00	16	normal	não
60	31	27	leuco	2	1	0	31.30	34.00	8	alterado	não
61	30	24		1	0	0	26.00	33.00	26	normal	não
62	37	39	leuco	4	3	0	35.00	37.00	5	alterado	DMG
63	19	23		2	0	1	31.00	32.00	3	alterado	DMG
64	27	33	faio	1	0	0	30.00	32.00	6	alterado	DMG
65	34	21	leuco	1	0	0	34.00	35.00	2	alterado	DMG
66	26	29	melano	3	0	2	30.00	37.00	23	normal	DMG
67	17	30	faio	3	1	1	27.00	27.00	0	alterado	DMG
68	29	37	leuco	1	0	0	35.00	37.00	5	alterado	DMG
69	33	35	leuco	1	0	0	38.00	42.00	10	normal	DMG
70	31	34		2	1	0	18.00	17.00	0	alterado	DMG
71	35	30	faio	3	2	0	31.00	35.00	12	normal	DMG
72	33	31	melano	6	4	1	32.00	37.00	15	normal	DMG
73	32	32	faio	5	4	0	27.00	32.00	18	normal	DMG
74	34	29		2	1	0	32.00	36.00	12	normal	DMG
75	34	37	leuco	3	2	0	31.00	34.00	9	alterado	DMG
76	10	24	leuco	3	2	0	30.00	32.00	6	alterado	DMG
77	27	36	faio	3	1	1	33.00	36.00	9	alterado	DMG
78	27	24		2	1	0	21.70	24.20	11	normal	DMG
79	34	45	leuco	5	4	0	38.00	42.00	10	normal	DMG
80	32	34	melano	1	0	0	29.30	32.00	9	alterado	DMG

IG= idade gestacional, G= número de gestações, P= número de partos, A= número de abortos, Diâmetro antes= medida inicial da artéria braquial, Diâmetro depois= medida da artéria braquial após o teste da FMD, PE= pré-eclâmpsia, não= grupo controle, DMG= diabetes *mellitus* gestacional



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640
cpg@medicina.ufmg.br



ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de MARIA FERNANDA BRANDÃO DE REENDE GIMARÃES, nº de registro 2010653178. No dia vinte e cinco de novembro de dois mil e onze, reuniu-se na Faculdade de Medicina da UFMG a Comissão Examinadora de dissertação indicada pelo Colegiado do Programa para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: "AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL EM GESTANTES PORTADORAS DE PRÉ-ECLÂMPSIA E DE DIABETES MELLITUS GESTACIONAL ATRAVÉS DA DILATAÇÃO FLUXO-MEDIADA DA ARTÉRIA BRAQUIAL", requisito final para a obtenção do grau de Mestre em Saúde da Mulher, pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher - Área de Concentração Perinatologia. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. César Alencar de Lima Rezende, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho final, passou a palavra à candidata para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata e do público para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. César Alencar de Lima Rezende/Orientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APTO</u>
Prof. Antônio Carlos Vieira Cabral	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APTO</u>
Profa. Patrícia Gonçalves Teixeira	Instituição: UNIFENAS	Indicação: <u>APTO</u>

Pelas indicações a candidata foi considerada APROVADA.

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 25 de novembro de 2011.

Prof. Cèzar Alencar de Lima Rezende _____

Prof. Antônio Carlos Vieira Cabral _____

Profa. Patrícia Gonçalves Teixeira _____

Prof. Antônio Carlos Vieira Cabral/Coordenador _____

CONFERE COM O ORIGINAL
Centro de Pós-Graduação

Prof. Antônio Carlos Vieira Cabral
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Saúde da Mulher
Faculdade de Medicina - UFMG



**FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409-9640
cpq@medicina.ufmg.br



DECLARAÇÃO

A Comissão Examinadora abaixo assinada, composta pelos Professores Doutores Cézar Alencar de Lima Rezende, Antônio Carlos Vieira Cabral e Patrícia Gonçalves Teixeira, aprovou a defesa da dissertação intitulada **“AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL EM GESTANTES PORTADORAS DE PRÉ-ECLÂMPSIA E DE DIABETES MELLITUS GESTACIONAL ATRAVÉS DA DILATAÇÃO FLUXO-MEDIADA DA ARTÉRIA BRAQUIAL”** apresentada pela mestrandia **MARIA FERNANDA BRANDÃO DE RESENDE GUIMARÃES**, para obtenção do título de mestre em Saúde da Mulher, pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher - Área de Concentração em Perinatologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 25 de novembro de 2011.

Prof. Cézar Alencar de Lima Rezende
Orientador

Prof. Antônio Carlos Vieira Cabral

Profa. Patrícia Gonçalves Teixeira