

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA**

Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher

LÚCIA APARECIDA CAMPOS COSTA

**ESTUDO LONGITUDINAL DA DOSAGEM URINÁRIA DA
ENDOGLINA E DA CREATININA COMO PREDITORES
DA PREECLÂMPSIA**

**Belo Horizonte
2015**

LÚCIA APARECIDA CAMPOS COSTA

**ESTUDO LONGITUDINAL DA DOSAGEM URINÁRIA DA
ENDOGLINA E DA CREATININA COMO PREDITORES
DA PREECLÂMPSIA**

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 para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Perinatologia

Orientadora: Profa. Dra. Zilma Silveira Nogueira Reis

Co-Orientador: Prof. Dr. André Luiz Barbosa Roquette

**Belo Horizonte
2015**

C837e Costa, Lúcia Aparecida Campos.
Estudo Longitudinal da dosagem urinária da Endoglin e da Creatina como preditor da Preeclâmpsia [manuscrito]. / Lúcia Aparecida Campos Costa. -- Belo Horizonte: 2015.
102f.: il.
Orientador: Zilma Silveira Nogueira Reis.
Coorientador (a): André Luiz Barbosa Roquete.
Área de concentração: Perinatologia.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Creatinina. 2. Pré-Eclâmpsia. 3. Neovascularização Patológica. 4. Glicoproteínas de Membrana. 5. Dissertações Acadêmicas. I. Reis, Zilma Silveira Nogueira. II. Roquete, André Luiz Barbosa. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título

NI M - W.I 190

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca J. Baeta Vianna – Campus Saúde UFMG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor

Professor Jaime Arturo Ramírez

Pró-Reitoria de Pós-Graduação

Professor Rodrigo Antônio de Paiva Duarte

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor

Professor Tarcizo Afonso Nunes

Coordenador do Centro de Pós-Graduação

Professora Sandhi Maria Barreto

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

Coordenador

Professor Selmo Geber

Vice-Coodenador

Professor Fernando Marcos dos Reis

LÚCIA APARECIDA CAMPOS COSTA

**ESTUDO LONGITUDINAL DA DOSAGEM URINÁRIA DA
ENDOGLINA E DA CREATININA COMO PREDITORES
DA PREECLÂMPSIA**

Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher da Faculdade de
Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

Banca Examinadora

Orientador(a): Profa Zilma S. N. Reis– Presidente da banca – UFMG
Co-Orientador: Prof. Dr. André Luiz Barbosa Roquette– UFMG
Prof. Dr. Mário Dias Correia Júnior–Membro titular - UFMG
Profa. Dra Paula Peixoto Campos Lopes Membro titular externo ICB -
UFMG

Membros suplentes:

Profa. Dra. Eura Martins Lage –UFMG
Profa. Dra. Jacqueline Braga Pereira–UFOP

“Não confunda derrotas com fracasso nem vitórias com sucesso. Na vida de um campeão sempre haverá algumas derrotas, assim como na vida de um perdedor sempre haverá vitórias. A diferença é que, enquanto os campeões crescem nas derrotas, os perdedores se acomodam nas vitórias.”

Roberto Shinyashiki

Dedicatória

Pai (in memoriam) guardarei tua memória e serei fiel aos teus ensinamentos e princípios, você que me fez uma pessoa que lutasse pelos meus ideais . Onde quer que estejas nunca deixou de me amar, nem de acreditar em mim. Pai, meu amor eterno, tudo o que me ensinaste é a base de todo este meu trabalho. E esse é totalmente pra você.

Resumo

A preeclâmpsia (PE) é uma doença específica da gestação, e uma das principais responsáveis pela mortalidade e morbidade materna e perinatal do mundo. A etiologia é ainda obscura e os mecanismos placentários e vasculares relacionados a esta desordem ainda não estão esclarecidos. Durante as últimas décadas, diversos estudos de rastreamento clínico, biofísico e bioquímico buscam marcadores precoces e eficazes de preeclâmpsia que sejam acessíveis e úteis ainda durante o pré natal. Por isso, buscou-se neste trabalho aferir e analisar as dosagens urinárias de endoglina e da creatinina como preditores da PE, em gestações com fatores de risco. Realizou-se um estudo longitudinal com recrutamento de 87 gestantes, durante sua consulta de pré-natal no ambulatório de pré natal Jenny Faria do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. As gestantes selecionadas tiveram uma amostra de urina coletada uma vez antes de 20 semanas e outra após 20 semanas gestacionais. O método utilizado para determinação quantitativa para creatinina foi o cinético-colorimétrico, e as leituras foram obtidas em absorbância com fator de correção. Para a endoglina, a análise quantitativa foi realizada pela técnica de Elisa. Nas análises comparativas e individuais das concentrações urinárias de endoglina entre mulheres com PE e normotensas, dosadas antes e após 20 semanas gestacionais não foram significativas ($p > 0,05$). Avaliou-se a capacidade preditiva das concentrações urinárias de creatinina encontrada nos dois grupos de estudo e constatou-se que a cada mg/dL na concentração de creatinina em amostra de urina obtida antes de 20 semanas gestacionais, a chance de desenvolver PE aumenta 1,5% ($p = 0,001$). Nesse estudo as concentrações urinárias de endoglina em amostra aleatória de gestantes com fatores de risco para PE não se associou à doença no momento do parto, em nenhuma das fases da gestação: antes ou após 20 semanas gestacionais. No entanto, uma maior chance de desenvolver PE foi associada a uma concentração de creatinina urinária em uma amostra aleatória, coletada durante a primeira metade da gravidez.

PALAVRAS CHAVE: endoglina, creatinina, preeclâmpsia, angiogênese e neovascularização

Abstract

The preeclampsia (PE) is a specific disease of pregnancy and a major cause of maternal and perinatal mortality and morbidity in the world. The etiology is still obscure and placental, and vascular mechanisms related to this disorder remain unclear. During the last decades, several studies of clinical, biophysical and biochemical screening seek early and effective markers of preeclampsia that would be accessible and useful even through the prenatal. The objective of this work was to check and examine the urinary dosages of endoglin and creatinine as predictors of PE in pregnancies with risk factors. This longitudinal study included 87 pregnant women enrolled during their prenatal routine consultation at the Pregnancy Ambulatory Jenny Faria, placed in the Hospital of the Federal University of Minas Gerais. Longitudinal samples of urine were collected, scheduled for before and after 20 weeks of pregnancy. Urinary concentration of creatinine was determined by the kinetic colorimetric method, and readings were obtained in absorbance with a correction factor. Urinary concentration of endoglin was performed by ELISA technique. The comparative and individual rates of urinary concentration of endoglin was not significant ($p > 0.05$), both before and after 20 weeks, among women with PE and normotensives.

We evaluated the predictive capacity of the urinary concentration of creatinine found in the two study groups. For each 1mg / dL in the concentration of urinary creatinine sample obtained before 20 weeks of pregnancy, the chance of developing PE increases 1.5% ($p = 0.001$). The urinary concentrations of endoglin, measured before and after 20 weeks of pregnancy in random samples of pregnant women with risk factors for PE, were not associated with disease in delivery. However, a greater chance of developing PE was associated with a urinary creatinine concentration in a random sample, collected during the first half of pregnancy.

KEYWORDS: endoglin, creatinine, preeclampsia, angiogenesis, neovascularization

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a DEUS, pela vida, por ter colocado pessoas tão especiais, amigas e dedicadas ao meu lado, por me amparar nos momentos difíceis e me dar forças para superar todas as dificuldades mostrando os caminhos certos nas horas incertas.

Ter uma pessoa ímpar como orientadora, Profa. Dra. Zilma, que pensa de forma tão egrégia, fez com que aumentasse significadamente a minha formação. Agradeço ilimitadamente por me ensinar a pensar de forma positiva, em todos os momentos. Por confiar no futuro deste projeto, não poupou esforços na orientação, dedicando seu tempo. Nunca me negou ajuda quando precisei assim contribuindo para o meu crescimento profissional e um exemplo a ser seguido.

Você, Prof. Dr. André Luiz Barbosa Roquette, além de co-orientador me mostrou que as nossas conquistas dependem inicialmente da nossa força de vontade. Agradeço pelo otimismo, por acreditar em mim, de uma forma que nem eu acreditava ser capaz de corresponder, me mostrando o caminho da ciência, fazendo de sonhos tão distantes, uma realidade.

Agradecer seria pouco para essa pessoa que além da indiscutível amizade, competência, compreensão e paciência em momentos complicados, é também uma referência pessoal para meu crescimento. Hellen, obrigada pelo companheirismo e dedicação por fazer parte da minha vida nos momentos bons e ruins, por ser exemplo de profissional e de mulher a qual sempre fará parte de minha vida, pois aos poucos fomos nos tornando mais que amigas, quase irmãs.... Obrigada por dividir comigo as angústias e alegrias e ouvir minhas bobagens. Foi bom poder contar com você!

Agradeço imensamente ao Programa de pós-graduação Saúde da Mulher em especial Prof Dr. Antônio Carlos Vieira Cabral que me recebeu de portas abertas, confiando no meu trabalho.

Agradeço a todos do laboratório de Angiogênese do ICB-UFMG que colaboraram para que esse projeto fosse concluído. Dedicaram seus conhecimentos e experiências nas dosagens laboratoriais. Em especial a Profa Dra Silvia Passos de Andrade e a Profa Dra Paula Peixoto Campos

À Profa. Dra. Jacqueline Braga Pereira, pelo apoio técnico e padronização nos ensaios, sem você as dosagens não seria possível.

À minha mãe e minha irmã que sempre acreditaram em mim fazendo-me forte para tentar sempre o melhor dando o impossível de mim . Obrigada pelo amor incondicional!

À Fapemig e Capes pelo apoio financeiro, possibilitando a realização do estudo.

À todos convidados da banca examinadora, que disponibilizaram seu tempo e conhecimento para agregar mais valor a esse projeto.

Por fim agradeço ao meu marido e aos meus filhos. Deixei por último porque as melhores coisas da vida costumo deixar pro final e vocês são o melhor da minha vida. Obrigada por agüentarem meu mau humor, meu cansaço, minhas reclamações. Obrigada Sandro por ser tão importante na minha vida, sempre me apoiando e estando do meu lado, pelo amor e cumplicidade, sempre acreditando em mim.

Obrigada Wesley e Carol por sempre me respeitar nos momentos de estudo e compreender que naqueles momentos era a minha hora , não podendo atendê-los. Não encontro palavras que consiga agradecê-los, simplesmente fico completamente envolvida por um enorme sentimento: gratidão. Muito obrigada

Os agradecimentos são infindáveis. Não há como agradecer as pessoas que direta ou indiretamente fizeram parte desse projeto. Para que fosse possível a conclusão deste trabalho a participação de vocês foi imprescindível .

Financiamento da pesquisa

Estudo realizado com financiamento da Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais - FAPEMIG, APQ-01112-09, obtido através do Edital Universal. Bolsa de Pós-graduação concedida pelo Programa Saúde da Mulher, órgão de fomento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior do Ministério de Educação e Cultura - CAPES.

Lista de Abreviaturas e Siglas

BSA	Bovine Serum albumin
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEMEFE	Centro de Medicina Fetal
CIUR	Crescimento intrauterino restrito
DILA	Dilatação fluxo- medial braquial
DL	Decilitro
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
ELISA	Enzime Linked Imunosorbent Assay
ENOS	Endothelial nitric oxide synthase
FAPEMIG	Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HC	Hospital das Clínicas
HCG	Human chorionic gonadotropin
HELLP	Hemolysis, elevated enzymes liver, low platelets count
IC	Intervalo de confiança
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
IMC	Índice de massa corporal
Mg	Miligramas
NHBPEPWG	National High Blood Pressure Education Programs Working Group
NK	Natural Killer
NM	Nanômetro
MMHG	Milímetro de mercúrio
NO	Nitric oxide
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
PE	Preeclâmpsia
PIGF	Placental growth factor
PPGSM	Programa de pós graduação da Saúde da Mulher
RPM	Rotação por minuto

sEng	Soluble Endoglin
sFlt1	Soluble fms-like tyrosine kinase
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
TFG	Taxa de filtração glomerular
TGF-β	Transforming growth factor beta
TNF- β	Tumor necrosis factor beta
TWEEN	Polyoxyethylene (20) sorbitanmonolaurate
UFMG	Universidade Federal de MinasGerais
UTI	Unidade de tratamento intensivo
VEGF	Vascular endothelial growth factor
μ	Micra
μL	Microlitro

Índice

Resumo	x
Abstract.....	xi
Agradecimentos.....	xii
Financiamento da pesquisa	xiv
Lista de Abreviaturas e Siglas	xvi
Índice	xviii
Índice de Figuras	xx
Índice de Tabelas	xxi
1. INTRODUÇÃO	22
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	26
2.1 Os desafios atuais da predição bioquímica da PE	26
2.2 Diagnóstico e classificação das síndromes hipertensivas da gravidez	27
2.3 Fatores de angiogênese e preeclâmpsia	29
2.3.1 A endogлина e sua importância na preeclâmpsia.....	34
2.4 A função renal na preeclâmpsia e os marcadores urinários	37
3. OBJETIVO	44
4. PACIENTES E MÉTODOS.....	46
4.1 Pacientes	46
4.1.1 Critérios de inclusão	46
4.1.2 Critérios de exclusão	47
4.2 Métodos:	48
4.2.1 Coleta e análise dos dados	49
4.2.2 Questões éticas e financiamento da pesquisa	49
4.2.3 Coleta de urina materna.....	50
4.2.4 Técnica de dosagem de creatinina urinária.....	50
4.2.5 Dosagem do fator de angiogênese (Endogлина)	52
4.3 Método estatístico	55
4.3.1 Cálculo amostral	55
4.3.2 Coleta e armazenamento de dados.....	56
4.3.3 Análise dos dados	56
5. RESULTADOS	58

5.1	Parâmetros clínicos do acompanhamento das gestações desde o recrutamento até o momento do parto.	58
5.2	Análises comparativas da evolução das gestações, segundo diagnóstico de PE no parto.	60
5.3	Variações nas concentrações urinárias de endoglinina e creatinina durante a gestação, em mulheres normotensas e com PE.	62
5.3.1	Variação das concentrações urinárias de endoglinina em mulheres normotensas ao longo da gestação.	63
5.3.2	Variação das concentrações urinárias de endoglinina em mulheres que desenvolveram PE.	64
5.3.3	Comparação das concentrações urinárias de endoglinina antes de 20 semanas gestacionais, entre mulheres normotensas e as que desenvolveram PE.	65
5.3.4	Comparação das concentrações urinárias de endoglinina após de 20 semanas gestacionais, entre mulheres normotensas e as que desenvolveram PE.	66
5.4	Variações nas concentrações urinárias de creatinina durante a gestação, em mulheres normotensas e com PE.	67
5.4.1	Variação das concentrações urinárias de creatinina em mulheres normotensas ao longo da gestação.	68
5.4.2	Variação das concentrações urinárias de creatinina em mulheres que desenvolveram PE.	69
5.4.3	Comparação das concentrações urinárias de creatinina antes de 20 semanas gestacionais, entre mulheres normotensas e as que desenvolveram PE.	69
5.4.4	Comparação das concentrações urinárias de endoglinina após de 20 semanas gestacionais, entre mulheres normotensas e as que desenvolveram PE.	70
5.5	Avaliação das concentrações urinárias de endoglinina, creatinina e relação endoglinina / creatinina, como marcadores da PE, em gestantes com fator de risco.	71
6.	DISCUSSÃO	74
6.1	Contextualização do estudo e características da coorte estudada	74
6.2	Análise comparativa entre o grupo de gestantes que desenvolveu preeclâmpsia e o que permaneceu normotenso.	79
7.	CONCLUSÃO	86
	REFERÊNCIAS	88
	ANEXOS «	95
	Anexo 1: Ata da defesa	99
	Anexo 2: Folha de aprovação	998
	Anexo 3: Parecer de aprovação do COEP.	999
	Anexo 4:: Termo de consentimento Livre e Esclarecimento	100100

Índice de Figuras

Figura 1: Circulação útero placentária normal e na preeclâmpsia (Bell, 2004)	30
Figura 2: A e B –Invasão trofoblástica anômala na preeclâmpsia (Karumanchi <i>et al.</i> , 2005).....	30
Figura 3: Fisiopatologia da preeclâmpsia(Naljayan e Karumanchi, 2013)	32
Figura 4: Membrana ligada e formas solúveis de endoglina Fonte:(Huret, 2015)	36
Figura 5: Diagrama do recrutamento pré-natal e seguimento das gestantes até o parto, por estado hipertensivo.....	47
Figura 6: Diagrama de coleta das amostras urinárias nas gestantes recrutadas.....	48
Figura 7: Evolução das concentrações de endoglina urinário durante a gestação em mulheres normotensas	64
Figura 8: Evolução das concentrações de endoglina urinário durante a gestação em mulheres com PE	65
Figura 9: Comparação entre as concentrações urinárias de endoglina entre mulheres com PE e normotensas, dosadas antes de 20 semanas gestacionais	66
Figura 10: Comparação entre as concentrações urinárias de endoglina entre mulheres com PE e normotensas, dosadas após 20 semanas gestacionais.....	67
Figura 11: Concentrações de creatinina urinária durante a gestação em mulheres normotensas no momento do parto	68
Figura 12: Evolução das concentrações de creatinina urinária durante a gestação em mulheres com PE...	69
Figura 13: Comparação entre as concentrações urinárias de creatinina entre mulheres com PE e normotensas, dosadas antes de 20 semanas gestacionais	70
Figura 14: Comparação entre as concentrações urinárias de creatinina entre mulheres com PE e normotensas, dosadas após 20 semanas gestacionais.....	71

Índice de Tabelas

Tabela 1: Características clínicas e epidemiológicas das gestantes da coorte, no momento do recrutamento (N=87)	58
Tabela 2: Características clínicas e obstétricas das gestantes da coorte, no momento do parto (n=87)	59
Tabela 3: Características clínicas e epidemiológicas dos neonatos, no momento do parto (n=87)	60
Tabela 4: Características clínicas e epidemiológicas das gestantes normotensas e com PE, no momento do recrutamento (n=87)	61
Tabela 5: Características clínicas e epidemiológicas das gestantes normotensas e com PE, no momento do parto (n=87).....	62
Tabela 6:Análise univariada logística dos preditores urinários de PE estudados.....	72

1. INTRODUÇÃO

A Preeclâmpsia (PE) é uma das principais responsáveis pela mortalidade e morbidade materna e perinatal no mundo (Bujold *et al.*, 2005; Fayyad e Harrington, 2005; Kang *et al.*, 2011; Acog, 2013). A etiologia é ainda desconhecida e um desafio para pesquisadores, profissionais de saúde e gestores do cuidado, pois a abordagem atual ainda é focada na prevenção e tratamento das complicações. Vários são os caminhos que buscam esclarecimentos a respeito, pois as pesquisas na área levam a um conjunto de hipóteses diferentes que conjugadas ou não, são incompletas para elucidar sua causa, prevenção ou tratamento eficaz. Ocorre na frequência que varia de 4 a 13% (Fayyad e Harrington, 2005; Kang *et al.*, 2011), das gestações, mas responde por aproximadamente 16% da mortalidade materna (Kang *et al.*, 2011), desafiando até o cuidado em países desenvolvidos (Dekker e Sibai, 1998; Kang *et al.*, 2011).

Considerada uma síndrome específica da gravidez, de origem multifatorial, tentativas já foram feitas no sentido de se intervir preventivamente em seu estágio inicial, ou seja, no início da gravidez, mas ainda sem sucesso aplicável na prática clínica (Fayyad e Harrington, 2005; Kang *et al.*, 2011). Seria de suma importância a identificação precoce das mulheres com maior chance de PE, visando tanto ao seu diagnóstico precoce, assim como, de preferência, à sua identificação antes da fase clínica. Nesta perspectiva as possibilidades ainda em pesquisas de prevenção e tratamento eficaz, seria muito benéfica para a gestante e para o feto.

As buscas por um marcador precoce e eficaz de PE vislumbram respostas onde o interesse clínico é maior, ou seja, na expectativa de um biomarcador, que seja preditor acessível e útil

ainda durante o pré-natal. Os fatores de angiogênese presentes no plasma da gestante têm se mostrado promissores (Teixeira *et al.*, 2013).

Em 2007 entrei no curso de Biomedicina. Ainda frequentava a faculdade quando fui convidada na qualidade de acadêmica, a fazer parte de um programa de Iniciação Científica dentro do Instituto de Ciência Biológicas da UFMG, no laboratório de membranas excitáveis (Lamex) no Departamento de Bioquímica, no Projeto de pesquisa: Exercise capacity is related to calcium in transients ventricular cardiomyocytes, orientada pelo professor Dr. Thales Nicolau Prímola Gomes, por onde permaneci até o primeiro semestre de 2009.

A busca incansável pela oportunidade de participar de um estudo, onde eu pudesse pesquisar em amostras humanas e não em animais era interminável. Outros projetos vieram até que, depois de formada, em 2013, fiquei conhecendo as pesquisas existentes na Saúde da Mulher, o que muito me motivou, já que a minha intenção também sempre foi trabalhar com gestantes.

Trilhar o caminho da carreira científica para mim, iniciou-se efetivamente na entrada do programa de Saúde da Mulher e o contato com os profissionais da Faculdade de Medicina. Como biomédica conhecia as infindáveis possibilidades de estudos em projetos dentro do Centro de Medicina Fetal (CEMEFE) e ao me deparar com um projeto multidisciplinar que buscava marcadores preditivos para o diagnóstico e prognóstico da professora Dr^a Zilma Reis, entendi a importância desse tipo de iniciativa, que é proporcional a sua complexidade. Percebi que não se trata apenas de um projeto, mas de uma linha de pesquisa, que compreende uma teia de estudos. Para isto é necessária uma base concisa de dados clínicos, laboratoriais e estatísticos para assim se obter bons resultados.

Por ser um tema complexo, desafiador e ao me deparar com tantas mulheres com esse problema, aceitei o desafio, mesmo não sendo médica, mas, por poder ajudar com práticas laboratoriais e com a ajuda de vários profissionais, contribuir para a elucidação da fisiopatologia da PE. Motivou-me especialmente a busca por preditores em uma amostra de

urina, em gestantes durante o pré-natal, que não fosse invasiva, uma vez que essas mulheres já sofrem com diversos outros fatores do próprio momento e risco gestacional.

Durante minha trajetória no CEMEFE, liderado pelo professor Dr. Antônio Carlos Vieira Cabral acompanhei, semanalmente a reunião clínico-científica do grupo, assisti a aulas de ultrassonografia com a professora Alamanda, acompanhei também gestantes com fetos malformados, o que às vezes me deixava muito mal, mas com um conhecimento incrível. Além disto, o Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher na área de concentração em Perinatologia e o CEMEFE dedicam-se, intensamente, há décadas, na pesquisa em busca da elucidação da PE.

Várias pesquisas nos antecederam e subsidiaram o presente estudo, em dissertações, teses e publicações. Dentro deste Programa de Pós-graduação, uma linha de vários anos contou com profissionais competentes e diretamente focados no estudo desta doença. Especificamente a procura por preditores, já foi investigada em amostras séricas. Estamos pela primeira vez com um estudo em espécimes urinários e com desenho longitudinal que acompanhou pacientes do pré-natal do Instituto Jenny de Andrade Faria por três anos. No estudo estiveram envolvidos grande número de professores, médicos e alunos de iniciação científica que ajudavam nessa coleta. Para que isso acontecesse tivemos apoio da FAPEMIG que financiou a compra de equipamentos e insumos para que as amostras fossem armazenadas e processadas. Dessas amostras surgiram pesquisas, que antecederam e subsidiaram o presente estudo, abordando os mais variados aspectos da PE. Contamos também com o valioso apoio laboratorial do ICB, no laboratório de Angiogênese da Prof^a Silvia Andrade e Prof^a Paula Campos.

O estudo realizado encontra-se aqui dividido em seis capítulos: o primeiro traz uma revisão bibliográfica da literatura focada na apresentação sumária dos principais conceitos, estudos científicos e referenciais teóricos necessários para a contextualização das hipóteses a serem testadas. O segundo pontua claramente os objetivos primários e secundários. O terceiro descreve a metodologia proposta e executada para seleção das pacientes, registro dos dados

clínicos, dosagens laboratoriais, assim como os métodos estatísticos de análise. O quarto capítulo traz os resultados encontrados de forma descritiva e analítica, utilizando-se de gráficos e tabelas. O quinto capítulo discute os resultados encontrados frente à literatura científica atual, limitações e usos, e faz considerações para sua aplicabilidade e perspectivas futuras. O sexto e último capítulo aponta as conclusões.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Os desafios atuais da predição bioquímica da PE

A PE é considerada a mais importante condição gestacional na qual a pressão arterial tem valores anormais, sendo reconhecida como um distúrbio hipertensivo próprio da gravidez (Reis *et al.*, 2003).

O tratamento correto e eficaz da PE seria a remoção completa da placenta, o que pode acarretar em um parto prematuro iatrogênico e suas sequelas. O surgimento de sinais maternos, antes mesmo de o feto apresentar todas as funções vitais devidamente prontas, elevam o risco de morbidade e mortalidade neonatal associados à prematuridade (Levine *et al.*, 2005; Acog, 2013). Depois de retirada a placenta os sintomas da PE geralmente desaparecem após horas ou dias. Várias terapias são realizadas para assim evitar que ocorra a morbidade perinatal (Baumann *et al.*, 2007; Baumann *et al.*, 2008).

A patogênese da PE ganha novos entendimentos a cada dia e exhibe grande diversidade de sintomas relacionados à doença, extremamente variáveis ao longo da gestação e entre as mulheres acometidas (Sibai *et al.*, 2005). Em determinados subconjuntos de mulheres como nas nulíparas, mulheres negras, adolescentes, diabéticas, hipertensas prévias entre outras, o risco de desenvolver uma PE encontra-se aumentado em relação às demais. Além destes, a idade superior a 35 anos, um baixo nível sócio econômico, obesidade e ganho elevado de peso durante a gravidez, também associam-se à doença (Caritis *et al.*, 1998; Duckitt e Harrington, 2005; Coghill *et al.*, 2011).

Marcadores bioquímicos como a proteinúria nem sempre estão presentes, ou são possíveis de ser aferidos. Enquanto isso, os estudos apontam novas perspectivas que incluem alguns fatores angiogênicos como capazes de identificar precocemente mulheres com a doença (Teixeira *et al.*, 2013). Entretanto, na prática clínica existe uma lacuna a ser preenchida por um marcador bioquímico precoce, acurado e custo-efetivo da doença.

2.2 Diagnóstico e classificação das síndromes hipertensivas da gravidez

A PE conceitualmente é a elevação da pressão arterial sistêmica identificada após 20 semanas de gestação, seja em uma mulher previamente normotensa ou não. A presença de proteinúria após 20 semanas também é um dado relevante, já que ela é um marcador da disfunção renal. A natureza sindrômica da doença, fez com que na última revisão e consenso do grupo de especialistas que sugerem os critérios de classificação mais usados em todo mundo, a dependência da proteinúria não seja mais um impeditivo ao diagnóstico e abordagem oportuna da doença. O Quadro 1 apresenta sumariamente os critérios para classificação dos estados hipertensivos na gravidez (Acog, 2013).

O edema é frequentemente observado na PE, mas não é específico da doença. Mesmo em pacientes que desenvolveram a eclâmpsia antes ou depois de 32 semanas, existe um número significativo de pacientes que sequer desenvolveu edema (Naljayan e Karumanchi, 2013). A sobreposição da PE à hipertensão arterial prévia pode aumentar significativamente a morbidade materna e fetal já comprometida com a doença crônica (Acog, 2013).

As principais complicações da PE são a eclâmpsia, disfunção renal e a síndrome HELLP (H=hemolysis, EL=elevated liver enzymes LP=low platelets count). Esta última caracteriza-se por, presença de hemólise, níveis elevados de enzimas hepáticas, e contagem baixa de plaquetas), acomete de 2 a 12% de pacientes com PE grave. A hemólise pode acontecer no

espaço intravascular e provocar hemoglobinúria. A microangiopatia ocorrida na síndrome HELLP, a hemólise vascular é do tipo mecânica. Esquizócitos podem ser visualizados no sangue periférico, pela sua passagem pelos vasos constrictos ou por ter sofrido lesão endotelial (Silva *et al.*, 2008).

Quadro 1: Classificação dos estados hipertensivos na gravidez

	<p>Síndrome específica do período gestacional, determinada pelo aumento da pressão arterial após 20 semanas, podendo ser sobreposta a outra doença hipertensiva. O termo PE leve, deve ser evitado, sendo substituído por PE sem critérios graves.</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ PAS 140mmHg/ PAD 90mmHg ou superior em duas ocasiões, pelo menos, 4 horas depois, enquanto o paciente está em repouso na cama, após 20 semanas de gestação em uma mulher com uma pressão arterial previamente normal. ✓ PAS 160mhg / PAD110 mmHg ou superior enquanto o paciente está em repouso, sendo necessárias duas medições pelo menos em 4 horas de intervalo. Podendo ser confirmado em dentro de intervalos mais curtos.
Preeclâmpsia	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Proteinúria • Maior ou igual a 300 mg por coleta de urina de 24 horas relação proteína / creatinina maior ou igual a 0,3 (leitura de fita 1+ ou mais, usado apenas se outros métodos quantitativos não estiverem disponíveis) <p>Ou, na ausência de proteinúria, hipertensão de início recente com o aparecimento de qualquer um dos seguintes diagnósticos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Insuficiência hepática, concentrações elevadas de transaminases hepáticas até duas vezes a concentração normal. ✓ Trombocitopenia (contagem de plaquetas inferior a 100.000 / μ) ✓ Concentração da creatinina no soro superior a 1,1 mg / dL ou de uma duplicação da concentração de creatinina sérica, na ausência de outra doença renal. ✓ Edema pulmonar ✓ Distúrbios cerebrais ou visuais
Eclâmpsia	É a fase convulsiva da desordem e está entre as manifestações mais graves da doença.
Hipertensão arterial crônica	Durante a gravidez o aumento da PA antes de 20 semanas de gestação ou sendo detectada antes da gestação,
PE sobreposta à hipertensão crônica	Tudo pode ser complicado, o prognóstico para a gestante e seu feto é pior do que na condição de PE isolada. Hipertensão antes do início da gestação que desenvolvem proteinúria após e antes de 20 semanas de gestação. Se a única manifestação é a elevação da PA para níveis inferiores a 160 mm Hg sistólica e diastólica 110 milímetros de Hg e proteinúria, este é considerado para ser PE sobreposta, sem recursos graves. A presença de disfunção orgânica é considerada PE sobreposta com características graves, para fins de classificação.
Hipertensão gestacional	Na maioria das vezes é caracterizado por elevações da PA diagnosticadas pela primeira vez, após as 20 semanas de gestação, pode ser um sinal de hipertensão crônica futura.

Fonte: (Acog, 2013)

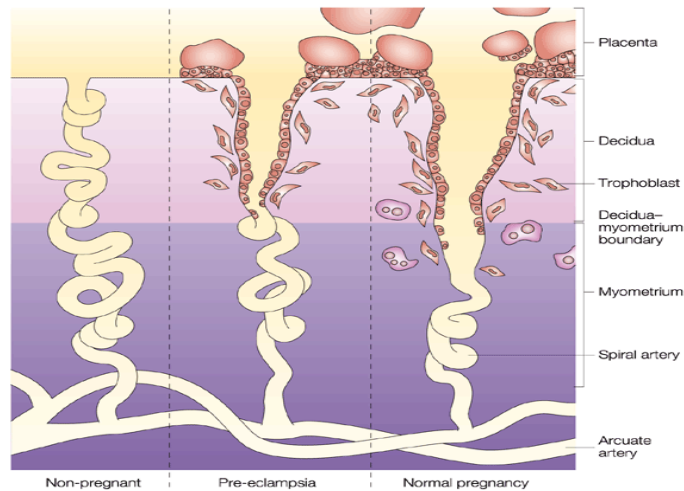
A eclâmpsia é uma complicação grave caracterizada pelo comprometimento neurológico, que aumenta sobremaneira o risco de morte (Roberts e Lain, 2002). A disfunção renal será discutida em mais detalhes adiante.

2.3 Fatores de angiogênese e preeclâmpsia

Nas semanas iniciais da gestação, o citotrofoblasto de origem fetal, penetra nas vilosidades das artérias espiraladas materna, deixando o endotélio mais resistente para receber sustentação destinada ao crescimento fetal. O citotrofoblasto muda seu fenótipo de células epiteliais para células endoteliais, num processo chamado de “mimetismo vascular” (Karumanchi *et al.*, 2005).

Na PE tal processo acontece de forma anômala, deixando as artérias espiraladas de alto calibre, menos resistente a sustentação e sem capacidade de prover uma boa perfusão placentária, o que leva a hipóxia tecidual e dificulta o crescimento fetal. A imperfeição no mimetismo vascular traz consequências maternas e fetal, resultantes da hipóxia placentária (Dekker e Sibai, 1998; Kang *et al.*, 2011). Desta forma, a placenta tem um papel fundamental na fisiopatologia da PE. Para existir a doença necessita obrigatoriamente do trofoblasto, mas não necessariamente do feto, uma vez que pode haver PE em gestações molares (Corrêa Júnior *et al.*, 2009).

A invasão inadequada do trofoblasto nas artérias espiraladas é considerada uma das grandes responsáveis pela PE e eclâmpsia (Figura 1 e 2). O trofoblasto, derivado da camada exterior do blastocisto, é o responsável pela sua implantação e placentação. A PE inicia-se na placentação em consequência ao desequilíbrio funcional entre o vasodilatador e substâncias vasoativas. Por outro lado, para o sucesso da placentação, deve ocorrer um ajuste balanceado nos fatores antiangiogênicos e proangiogênicos (Guzin *et al.*, 2005).



Nature Reviews | Immunology

Figura 1: Circulação útero placentária normal e na preeclâmpsia (Bell, 2004)

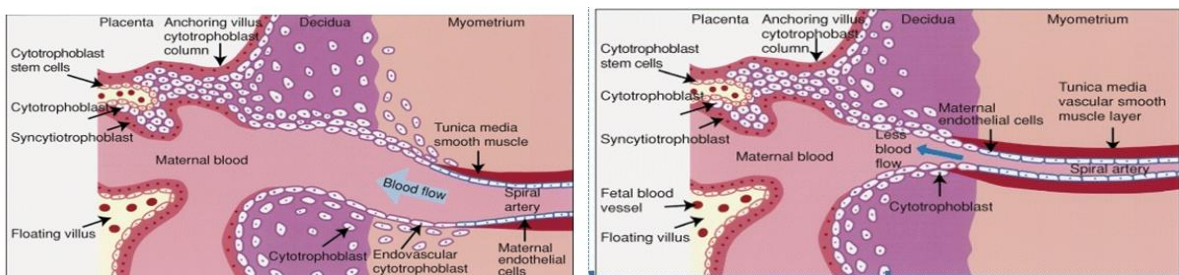


Figura 2: A e B –Invasão trofoblástica anômala na preeclâmpsia (Karumanchi *et al.*, 2005).

Em sequência à hipóxia placentária, a ativação endotelial parece ser um processo chave na patogênese da PE. O fracasso na invasão das arteríolas espiraladas leva a isquemia placentária e a liberação de um fator ainda desconhecido na corrente sanguínea materna, capaz de causar dano endotelial generalizado (Higgins *et al.*, 1998). A placenta mal perfundida sofre estresse oxidativo e hipóxia liberando fatores para uma circulação sistêmica materna. Essa disfunção como consequência leva a resposta inflamatória e sinais característicos da PE, com proteinúria e hipertensão (Kang *et al.*, 2011). Acredita-se que a placentação anormal aconteça já no início da gravidez, causando uma isquemia placentária. Essa isquemia, porém faz que com que a placenta libere fatores solúveis circulantes, especialmente durante o terceiro trimestre gestacional, induzindo uma disfunção materna endotelial sistêmica (Naljayan e Karumanchi, 2013).

A vascularização adequada é essencial para o desenvolvimento da placenta (Sibai *et al.*, 2005). A resposta vascular anormal na placentação está associada com aumento da resistência vascular sistêmica, aumento da agregação plaquetária, ativação do sistema de coagulação e disfunção de células endoteliais em mulheres com PE. E isso inclui os fatores angiogênicos que viabilizam a perfusão do órgão e os tecidos fetais na gravidez (Maynard *et al.*, 2003; Venkatesha *et al.*, 2006).

A PE tem sido entendida como uma doença da disfunção endotelial, com aumento significativo de células endoteliais circulantes, comparando-se com gestantes saudáveis controle (Grundmann *et al.*, 2008). Pacientes com doenças endoteliais prévias, mesmo após o parto continuam com quantidade de células endoteliais circulantes elevadas, enquanto que as gestantes com PE após o parto apresentam melhora clínica.

O VEGF (Vascular endothelial growth factor) é imprescindível na regulação da pressão sanguínea e na manutenção da integridade da barreira de filtração glomerular. Em consequência, formula-se a hipótese de que o excesso de sFlt1 secretado pela placenta na PE leva à disfunção endotelial, hipertensão, proteinúria e circulando pela antagonização de VEGF e PlGF (Placental growth factor). E assim o excesso de sFlt1 em gestantes com PE associa-se à disfunção endotelial generalizada (Maynard *et al.*, 2003).

Alterações patológicas resultantes da lesão endotelial e hipertensão sistêmica podem ocorrer no cérebro, fígado e adrenal. A redução do fluxo sanguíneo é visto em todos os órgãos causada pela perfusão reduzida, pela vasoconstrição (Figura 3). No rim as repercussões agravadas por uma pressão arterial sistêmica (PA) aumentada, caracteriza-se pelo aumento da proteinúria e descamação precoce dos podócitos renais (Roberts e Lain, 2002).

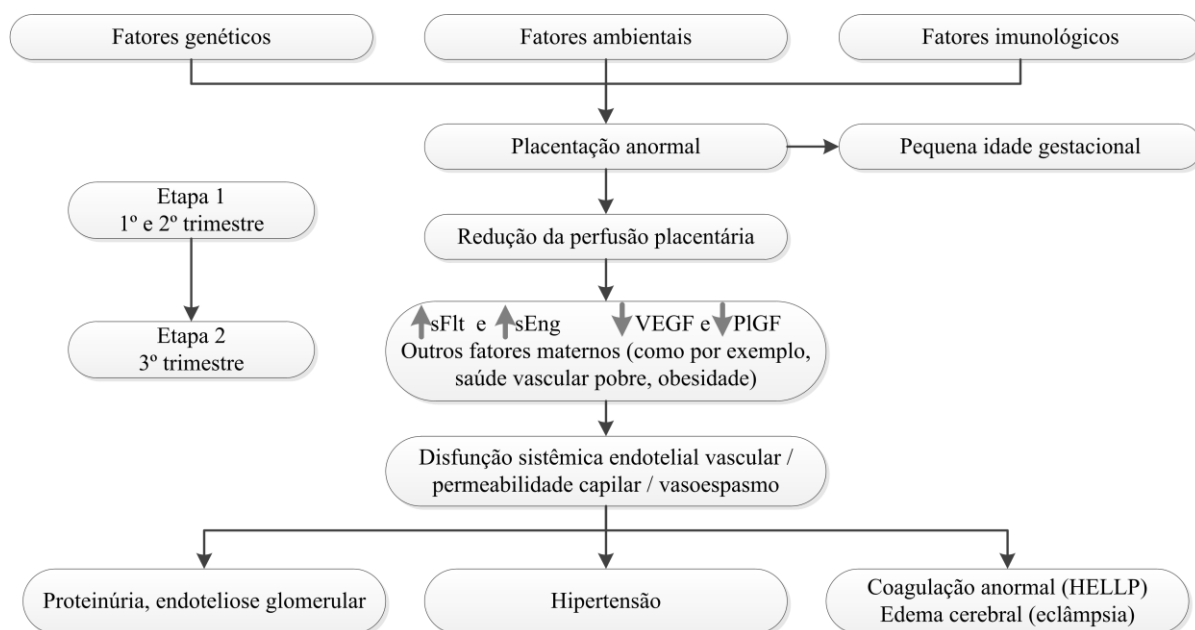


Figura 3: Fisiopatologia da preeclâmpsia (Naljayan e Karumanchi, 2013)

Fatores angiogênicos e seus receptores são importantes para a regulação do desenvolvimento vascular placentário adequado. São secretados pelas células da placenta e pelos linfócitos NK na decídua materna (Kar, 2014). Além de estarem envolvidos na formação de novos vasos, têm a função de estabilidade e reparação de lesões endoteliais. Exercem funções através de ligações com receptores presentes na superfície das células endoteliais, conhecidos como Flt-1 (Maynard *et al.*, 2003).

A PE por estar ligada a uma disfunção placentária parece refletir uma condição de estado antiangiogênico (Bujold *et al.*, 2005). Alterações na placentação estimulam uma exacerbada reação inflamatória e disfunção endotelial sistêmica através da liberação de “debris placentários” e de fatores antiangiogênicos que resultam em manifestações clínicas reconhecidas como pré-eclâmpsia. (Corrêa Júnior *et al.*, 2009). Dentro da placenta a regulação da angiogênese é essencial para seu crescimento, resultando em um feto saudável. A concentração sérica de fator angiogênico placentário (PIGF) aumenta gradualmente a partir de 8 semanas até 29-32 semanas de gestação (Muller-Deile e Schiffer, 2014). Em torno de 33-40 semanas de gestação observa-se uma diminuição, na gestação normal (Muller-Deile e Schiffer, 2014). Na PE os níveis de PIGF estão diminuídos (Cetin *et al.*, 2011), enquanto

os antiangiogênicos: receptor livre solúvel tirosina quinase (sFlt-1) e endogлина solúvel (sEng) estão aumentados na circulação materna (Polsani *et al.*, 2013).

O sFlt-1 é uma proteína solúvel endógena antiangiogênica que atua através da ligação às proteínas proangiogênicas: fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e fator de crescimento placentário (PlGF), reduzindo sua ação. Ele se liga e antagoniza o VEGF e o PlGF (Muller-Deile e Schiffer, 2014). A sEng é uma proteína antiangiogênica que age perturbando o fator transformante de crescimento beta (TGF- β) que atua na sinalização da neovascularização.

Estudos experimentais em ratas grávidas, mostram que a superexpressão do sFlt1 e sEng é capaz de induzir hipertensão grave, síndrome nefrótica, proteinúria, endoteliose glomerular, trombocitopenia, e restrição do crescimento fetal. (Levine *et al.*, 2006)

Na PE, os níveis sFlt1, PlGF e sEng tem se mostrado alterado, com predomínio dos fatores antiangiogênicos sobre os proangiogênicos (Romero *et al.*, 2008). Na gestação humana, mulheres que desenvolvem PE apresentam níveis mais elevados de sFlt1 e sEng e concentrações menores de PlGF (Naljayan e Karumanchi, 2013).

Tais achados não foram observados em pacientes com hipertensão gestacional. Nessas foram encontradas maior dilatação fluxo-medial braquial (DILA), sugerindo uma circulação hiperdinâmica quando comparados com pacientes com PE. Estes resultados sugerem que a fisiopatologia destas duas doenças são fundamentalmente diferentes, podendo haver alguma sobreposição com fatores de risco para os pacientes que são susceptíveis de adquirir essas duas doenças (Naljayan e Karumanchi, 2013). Alterações na circulação de fatores angiogênicos podem explicar vários fatores de risco como: gestação múltipla, trissomia13, nuliparidade, e gestação molar (Naljayan e Karumanchi, 2013).

Fatores angiogênicos presentes no plasma materno são preditores da PE. (Levine, 2006;

Teixeira et al., 2013). Os níveis de sFlt-1 estão aumentados e os níveis de PLGF foram encontrados diminuídos no plasma materno das gestantes com PE. Porém, a concentração de PlGF e de sFlt-1 não apresentou-se significativamente diferente entre os grupos de hipertensas crônicas e normotensas em sua análise transversal. O ratio PlGF/sFlt-1 que demonstra o desequilíbrio dos fatores proangiogênicos e antiangiogênicos foi o marcador sérico mais promissor da doença, em sua fase pré clínica.

Outros estudos têm mostrado o potencial das concentrações séricas dos fatores angiogênicos e antiangiogênicos na predição da PE. Níveis altos de sFlt-1 e níveis baixos de PlGF, além de sua baixa concentração no primeiro ou segundo trimestre são considerados um risco de desenvolver a PE (Levine *et al.*, 2005; Teixeira *et al.*, 2013). A relação PlGF / endoglina sérica materna ao longo de uma gestação normal pode ser descrita por uma função curvilínea, uma vez que a concentração aumenta a partir do primeiro trimestre em diante e atinge um pico em cerca de 28 semanas e a medida em que essa idade gestacional aumenta vai diminuindo lentamente. Entretanto gestantes destinadas a desenvolver PE apresentam menor relação PlGF/ endoglina ao longo da gestação que os controles (Romero *et al.*, 2008). Além disto, um desequilíbrio mais recente relatado inclui o TGF- β e a sEng como sinalizadores dos processos angiogênicos (Robinson e Johnson, 2007).

2.3.1 A endoglina e sua importância na preeclâmpsia

A endoglina ou CD105 é um co-receptor de superfície celular para o fator transformante de crescimento (TGF- β) e sua isoforma (TGF- β 3), altamente expressa nas membranas de células do endotélio vascular e do sinciciotrofoblasto placentário. É uma glicoproteína antiangiogênica de 180 kDa (Levine *et al.*, 2006; Robinson e Johnson, 2007; Buhimschi *et al.*, 2010). Duas isoformas da membrana geradas por splicing alternativo foram descritas: L-endoglina (longo) e S-endoglina (curto) que diferem um do outro nas suas caudas citoplasmáticas, sendo L-Endoglina a isoforma mais abundante (Oujo *et al.*, 2014).

Funcionalmente a endoglina é um fator que interfere na produção de óxido nítrico (NO), vasodilatação e a formação de vasos capilares pelas células endoteliais (Robinson e Johnson, 2007; Kar, 2014). O NO é originado no endotélio com ação vaso-relaxante altamente potente e contribui para a regulação da pressão arterial sistêmica, a permeabilidade vascular e angiogênese (Venkatesha *et al.*, 2006). Em células que estão em estado de repouso, a endoglina é expresso em níveis baixos, mas em células endoteliais é altamente expressa em locais de angiogênese ativa, tais como vasos tumorais, tecidos inflamados, cicatrização de feridas, pele psoriática, artrite sinovial inflamada, sobre a lesão vascular, e durante a embriogênese (Huret, 2015).

A endoglina circulante (sEng), tem um papel no prognóstico do câncer no pulmão, câncer de mama, próstata e outros cânceres. Estudos *in vitro* mostram que a ligação da sEng em TGF- β inibe a formação de vasos capilares, em soro materno se liga ao TGF- β inibindo a ativação da Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) e a vasodilatação (Robinson e Johnson, 2007).

A sEng é o resultado da clivagem do domínio extracelular proteolítica de endoglina ou um produto de mecanismos de processamento alternativo. Altos níveis de sEng são liberados na circulação humana antes das manifestações clínicas da PE, e por isso tem sido proposta como um biomarcador da doença (Levine *et al.*, 2006). Possui ação bloqueadora dos fatores proangiogênicos: TGF- β 1 e VEGF (Venkatesha *et al.*, 2006).

Estudos em animais por meio de vetores adenovirais constatou sua ação no aumento da permeabilidade vascular e hipertensão induzida sem proteinúria. O sFlt e a endoglina são capazes de desencadear graves danos vasculares, nefrótica, proteinúria, hipertensão arterial grave, uma síndrome similar à síndrome HELLP (hemólise, elevação das enzimas hepáticas e plaquetas baixas) e restrição de crescimento fetal (Levine *et al.*, 2006).

Na Figura 4 as formas de apresentação da endoglina foram ilustradas. São duas as isoformas ligadas a membrana: S-endoglina e L-endoglina. Elas são diferentes no comprimento e na

composição de suas caudas citoplasmáticas. Caudas citoplasmáticas de endogлина curto (S) e endogлина longo (L). As diferentes sequências das isoformas de L e S estão em azul. O motivo de ligação PDZ em L-endogлина está sublinhado. O que gera a endogлина em endogлина solúvel é o processamento proteolítico de membrana vinculado que é regulada em câncer e PE.

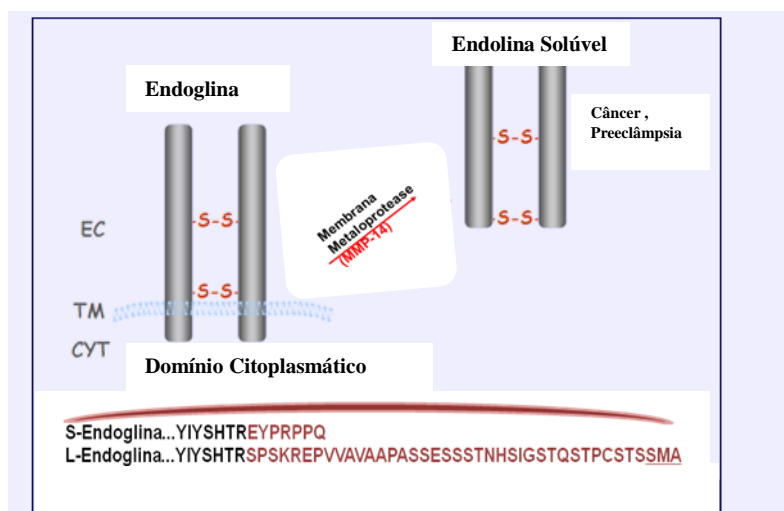


Figura 4: Membrana ligada e formas solúveis de endogлина. Adaptado de (Huret, 2015)

Os níveis de sEng na circulação sanguínea em uma gravidez normal são estáveis e aumentam aos poucos por 33-42 semanas de gestação. Em mulheres com PE os níveis séricos de sEng estão aumentados em mulheres com sinais clínicos. A endogлина placentário é regulado para cima e sendo assim está aumentando na circulação de mulheres com PE. O aumento dos níveis de sEng podem indicar o início da PE (Levine *et al.*, 2006). Mulheres com níveis mais elevados de sEng em 21 a 32 semanas de gestação tiveram um risco aumentado de PE (Levine *et al.*, 2006; Kar, 2014) e aumento do risco de um bebê pequeno para a idade gestacional (Levine *et al.*, 2006; Laskowska *et al.*, 2012). Gestantes com níveis séricos aumentado entre 15 e 20 semanas de gestação desenvolveram PE e seus bebês apresentam pesos inferiores a de bebês de gestações normais, segundo pesquisas feitas por (Robinson e Johnson, 2007). Baixa concentração materna de sFlt-1 no início da gravidez, seguido por um forte aumento posterior do sFlt-1 e sEng associou-se a um risco elevado de restrição do crescimento fetal, retardo do crescimento placentário; insuficiência placentária;

fator de crescimento transformador beta; fatores de crescimento vasculares endoteliais (Asvold *et al.*, 2011).

Após o parto, as mulheres com PE apresentam redução de até 70% em média de níveis circulantes de sEng em relação as grávidas normais, sugerindo assim que a placenta é uma importante fonte de sEng durante a gravidez, porém outras fontes como a vasculatura materna não podem ser descartadas (Venkatesha *et al.*, 2006)

2.4 A função renal na preeclâmpsia e os marcadores urinários

O rim apresenta um papel fundamental no equilíbrio dos demais sistemas corporais (Dunlop, 1979). Em indivíduos saudáveis, diversos são os mecanismos associados à regulação da excreção de proteínas, no sentido de impedir a perda plasmática, como por exemplo: a filtração glomerular, secreção tubular e a não reabsorção tubular (Nunes, 2007). Mesmo assim, a excreção de proteínas e de outros nutrientes na urina em uma pessoa é comum, porém em pequenas quantidades. Em uma gestação normal essa perda é consideravelmente maior (Hyttén, 1973). As moléculas pequenas são encontradas quantidades praticamente iguais no filtrado e no plasma capilar. Antes da gestação, uma mulher saudável tem a maioria das substâncias excretadas prontamente reabsorvidas (Dunlop, 1979).

Na gravidez normal os rins são submetidos para um grande fluxo de plasma (Hyttén, 1973), estando o fluxo sanguíneo renal e a filtração glomerular aumentados (Cunningham *et al.*, 2010). Várias são as alterações adaptativas à gestação no sistema urinário. O Quadro 2 traz estas mudanças de forma sumária. Uma dilatação do sistema pielocalicial, um aumento de até 30%, é vista durante o segundo trimestre e mais proeminente no lado direito. Existe uma probabilidade que durante a gravidez desenvolva hidronefrose, apenas como resultado da compressão dos ureteres entre o útero grávido e a línea terminalis (Rasmussen e Nielsen, 1988). O ritmo de filtração glomerular no terceiro trimestre depende da posição corporal. Em decúbito lateral esquerdo a filtração é 100% maior do que no decúbito dorsal. Esse aumento

ocorre pelo fato da compressão da veia cava inferior pela massa uterina na vigência do decúbito dorsal, que há então uma diminuição do débito cardíaco e do fluxo plasmático renal (Atallah, 2003).

Quadro 2: Alterações renais em uma gravidez normal

Alteração		Relevância clínica
Tamanho dos rins	Radiografia mostra-se aproximadamente 1 cm mais longo	Volta ao tamanho normal pos parto
Dilatação	Na ultrassonografia é semelhante a hidronefrose mais evidente à direita	Pode haver uma confusão com uropatia obstrutiva, problemas urinários podem estar relacionados com a retenção urinários, as infecções urinárias ficam mais persistentes e virulentas.
Função renal	A taxa de filtração glomerular e o fluxo plasmático aumentam cerca de 50%.	A creatinina sérica em uma gestação normal fica reduzida, (>0,8 mg/dl>72 µmol/l). A excreção de proteínas, aminoácidos e glicose aumentam.
Equilíbrio ácido base	Acontece uma redução no limiar do bicarbonato, a progesterona estimula o centro respiratório	Bicarbonato sérico reduzido em 4 a 5 mEq/l PCO ₂ reduzida em 10mmHg.
Osmolaridade plasmática	A regulação osmótica fica alterada, aumento da excreção hormonal	Osmolaridade sérica reduzida, elevação do metabolismo placentário de vasopressina pode causar diabetes insípido transitório.

Fonte: (Cunningham *et al.*, 2010)

Nas gestantes com PE observam-se uma perfusão renal e uma filtração glomerular reduzida em cerca de 25% ao contrário das mulheres normotensas que tem um aumento na filtração glomerular em torno de 50% que já se inicia por volta do segundo mês de gestação (Barros *et al.*, 2006). Nas gestantes com PE leve, a filtração glomerular diminui moderadamente e parece ser o resultado de volume plasmático, reduzido que conduz a valores de creatinina no plasma mais que o dobro do esperado em uma gravidez normal(Hayashi *et al.*, 2002)

No entanto, em alguns casos de PE grave, o sistema renal é afetado profundamente e a creatinina no plasma pode estar aumentado muitas vezes o valor de uma gravidez normal ou

até 2-3 mg / dl, o que pode estar relacionado com um grande vasoespasma intrínseco renal (Navarro Echevarría, 2010). As principais alterações no sistema urinário consequentes à PE foram apresentadas no Quadro 3.

Quadro 3: Alterações renais em uma gravidez com preeclâmpsia

Alteração		Relevância clínica
Tamanho dos rins	O comprimento renal aumenta em até 1,5 cm.	Volta ao tamanho normal pos parto
Dilatação	Na ultrassonografia é semelhante a hidronefrose mais evidente à direita	Pode haver uma confusão com uropatia obstrutiva, problemas urinários podem estar relacionados com a retenção urinários, as infecções urinárias ficam mais persistentes e virulentas.
Função renal	Perfusão renal e a filtração glomerular é reduzida.	A creatinina sérica em uma gestação com PE fica aumentada, (2-3 mg/dl). A excreção de proteínas, aminoácidos e glicose aumentam.
Osmolaridade plasmática	A regulação osmótica fica alterada, aumento da excreção hormonal	Osmolaridade sérica reduzida, elevação do metabolismo placentário de vasopressina pode causar diabetes insípido transitório.

As células que residem na membrana basal glomerular são as chamadas de podócitos e são responsáveis pela manutenção da estrutura do filtro glomerular. A falta deles acarreta um prejuízo na filtração glomerular e acredita-se que sua descamação precoce contribua para o aparecimento da proteinúria (Schiffer *et al.*, 2001). O podócito quando danificado, perde suas interdigitações, iniciando um processo de desdiferenciação. Sua aderência à membrana glomerular basal torna-se inadequada, e conseqüentemente, ele é excretado excessivamente na urina. Sabe-se que o montante de proteinúria está diretamente relacionado na PE aos desfechos desfavoráveis materno e perinatal (Coelho *et al.*, 2004), e que há uma correlação positiva entre o número de podócitos e o grau de proteinúria (Craici *et al.*, 2013).

Outra associação importante no processo ligado à podocitúria e a doença é o desequilíbrio dos fatores proangiogênicos e antiangiogênicos na circulação materna. Nos rins a endoteliose glomerular e proteinúrias são esperadas em graus variáveis. As manifestações renais na PE pode ser pelo excesso de sFlt1 (Naljayan e Karumanchi, 2013). Estudos comprovam que o sFlt1 se liga e neutraliza as ações do fator pró-angiogênico VEGF e do PIGF. As altas concentrações circulantes de sFlt-1 com relação a diminuição do VEGF e do PIGF, são visualizadas mesmo antes da sintomatologia dos sinais clínicos da PE. Suspeitam que lesões trofoblásticas aumentem a produção de sFlt1 placentária antagonizando o VEGF e o PIGF. (Maynard *et al.*, 2003; Hertig *et al.*, 2004; Hertig *et al.*, 2010).

Postula-se que a excreção dos podócitos na PE pode ser explicado por excesso sFlt1 com perda de ações VEGF nos glomérulos. A perda de fenestra endotelial devido à falta de sinalização de VEGF glomerular e também ao dano das células podocitárias leva a uma redução significativa da taxa de filtração glomerular e renal em PE (Lafayette *et al.*, 1998; Naljayan e Karumanchi, 2013).

Estudos recentes têm sugerido que no plasma ou na urina circulam fatores de angiogênese que podem ser utilizados para diferenciar PE de outras doenças similares, tais como hipertensão arterial crônica, gestacional hipertensão, nefrite lúpica, e trombocitopenia gestacional (Buhimschi *et al.*, 2010; Naljayan e Karumanchi, 2013), demonstram em seu estudo que o sFlt-1 urinário e o PIGF a relação sFlt / PIGF é superior do que qualquer analito analisado isoladamente ou aleatório para ser usado no prognóstico e diagnóstico de PE.

Um biomarcador ideal seria aquele com alta sensibilidade e especificidade, capaz de prever o prognóstico e a progressão da doença, tendo assim uma resposta a tratamentos que não sejam invasivos de fácil acesso (Polsani *et al.*, 2013). A urina e seus componentes tem sido extensivamente estudada como marcadora de prognóstico da PE, especialmente a proteinúria. No entanto, novos marcadores como a excreção dos fatores de angiogênese são ainda motivo de análises recentes.

Caracteriza-se como proteinúria na gravidez a excreção de proteína em uma concentração de 300 mg ou mais em uma coleta de urina de 24 horas. Como existe variabilidade de testes laboratoriais para aferir este parâmetro, pode haver variações nesta quantificação (Acog, 2013). A proteinúria pode ser detectada pelo método de leitura em fitas e o resultado para que seja positivo tem que ter 1+ ou mais (Acog, 2013).

Park *et al.* (2013) avaliou pacientes com PE, encontrando na urina de 24 horas resultados de proteína > 300 mg, porém resultados negativos na fita urinária. No entanto, a excreção de proteína na urina de 24 horas tem sido considerada como o padrão-ouro para esta medida (Park *et al.*, 2013).

Em uma série de gestantes acompanhadas em hospital de referência, Reis *et al.* (2010) que a excreção urinária de proteínas e a pressão arterial em gestantes com PE precoce foi maior, que com PE tardia, sendo este um marcador de prognóstico da doença.

A creatinina é um composto orgânico produto da degradação da creatina, componente das fibras musculares, liberada no sangue. É um produto formado constantemente sob condições estáveis. É filtrada pelos glomérulos, não é reabsorvida pelos túbulos renais, sendo em seguida excretada pela urina. Por isto, tem sido usada para avaliação da função glomerular. Assim, função renal está diminuída, a concentração de creatinina sanguínea aumenta (Schmitz, 2012). Assim quando a taxa de filtração glomerular (TFG) diminui, a concentração de creatinina sérica aumenta, porém a excreção urinária de creatinina permanece ainda constante. Entretanto, um aumento exagerado na concentração de creatinina plasmática reflete na diminuição de 50% na TFG (Schmitz, 2012).

A depuração da creatinina é mais elevada que outros metabólitos como a uréia e o ácido úrico, mas, na maioria das circunstâncias a depuração de creatinina endógena não difere da inulina, sendo amplamente utilizada em práticas clínicas, para taxa de filtração glomerular durante a gravidez (Dunlop, 1979). A excreção urinária de creatinina é relativamente constante, entretanto pode haver variação nesta excreção em 24 horas, especialmente devido

a ingestão variada de líquidos. Sendo assim, os resultados em tempos inferiores devem ser interpretados com extrema cautela (Dunlop, 1979).

A dosagem em amostra de urina aleatória da relação proteína / creatinina parece ser um indicador confiável de proteinúria na PE. Esta razão, estimada em amostra única, pode fornecer informações para o diagnóstico mais precoce da PE do que a excreção de proteínas na urina de 24 horas e com mais precisão do que o teste de fitas urinárias. No entanto, este teste ainda apresenta algumas desvantagens como custo e a demora no resultado, se comparado à proteinúria de fita. Sendo assim o método de fita por ser o de mais baixo custo e simplicidade ainda é o mais utilizado para inferir a perda protéica na PE, mesmo com elevado falso-positivo consequentes às flutuações da excreção no decorrer do dia e a ingestão de água, entre outros fatores (Park *et al.*, 2013).

Na gravidez saudável o limite superior no nível sérico esperado da creatinina é 0,8mg/dL. Uma concentração plasmática de 1,0 mg/dL já demonstra uma diminuição significativa da função renal. Assim, acredita-se que uma grávida com 1,2mg% de creatinina tenha uma redução de aproximadamente 50% no ritmo da filtração glomerular (Barros *et al.*, 2006).

O valor de depuração da creatinina pode parecer alterado em consequência da técnica incorreta de coleta da urina. Valores subestimados podem refletir um aumento da secreção tubular da creatinina, que ocorre quando a taxa de filtração glomerular diminui. 10% a 40% da creatinina excretada é originada da secreção tubular de cátions orgânicos no túbulo proximal. E esta secreção é mais significativa quando a taxa de filtração glomerular estiver reduzida (Nunes, 2007).

3. OBJETIVO GERAL

O presente estudo se propõe avaliar as dosagens urinárias de endoglina e da creatinina como preditoras da PE, em gestações com fator de risco para esta doença.

Objetivos específicos:

A. Avaliar se a dosagem de endoglina urinário é factível em amostra aleatória de urina de gestantes, obtidas durante o período pré-natal.

B. Analisar se as concentrações urinárias de endoglina obtidas possuem valores médios superiores nas mulheres que irão desenvolver PE ao final da gestação.

C. Avaliar se a dosagem de creatina urinária é factível em amostra aleatória de urina de gestantes, obtidas durante o período pré-natal.

D. Analisar se as concentrações urinárias de creatinina urinário obtidas possuem valores médios superiores nas mulheres que irão desenvolver PE ao final da gestação.

4. PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Pacientes

Em um estudo observacional longitudinal, foram recrutadas mulheres grávidas para participar do estudo, atendidas no hospital das clínicas da UFMG em Belo Horizonte. A seleção foi realizada segundo critérios de elegibilidade para um maior risco de PE e o seguimento até o parto.

4.1.1 Critérios de inclusão

Foram incluídas gestantes com idade gestacional ≤ 20 semanas, que não faziam uso de tabaco, não podendo ter uma gravidez gemelar, que apresentavam pelo menos um dos fatores de risco para desenvolvimento de PE :

- História obstétrica:
 - Nuliparidade
 - Primipaternidade
 - História de PE em gestação anterior;

- Obesidade, avaliada por $IMC \geq 30 \text{kg/m}^2$;
- Idade ≥ 35 anos;
- Raça não-branca;
- Portadora de hipertensão arterial crônica.

O ajuste da idade gestacional foi realizado com a data da última menstruação, através da regra de Nagele, corrigida através de exame de ultrassom, realizado na primeira metade da gravidez. A definição de hipertensão arterial crônica na gestação seguiu critérios do Colégio Americano de Ginecologistas e Obstetras, resumidas no Quadro 1 (Acog, 2013).

4.1.2 Critérios de exclusão

Foram critérios de exclusão, condições que pudessem alterar as condições de leitura dos exames bioquímicos ou perda gestacional antes de 20 semanas, tais como:

- Diabetes gestacional;
- Abortamentos

Não houve necessidade de realizar nenhuma exclusão. Apenas os dados do parto, em dois casos, foram considerados imprecisos quanto a idade gestacional no parto. Estes permaneceram no estudo e a variável faltante dada como perdida.

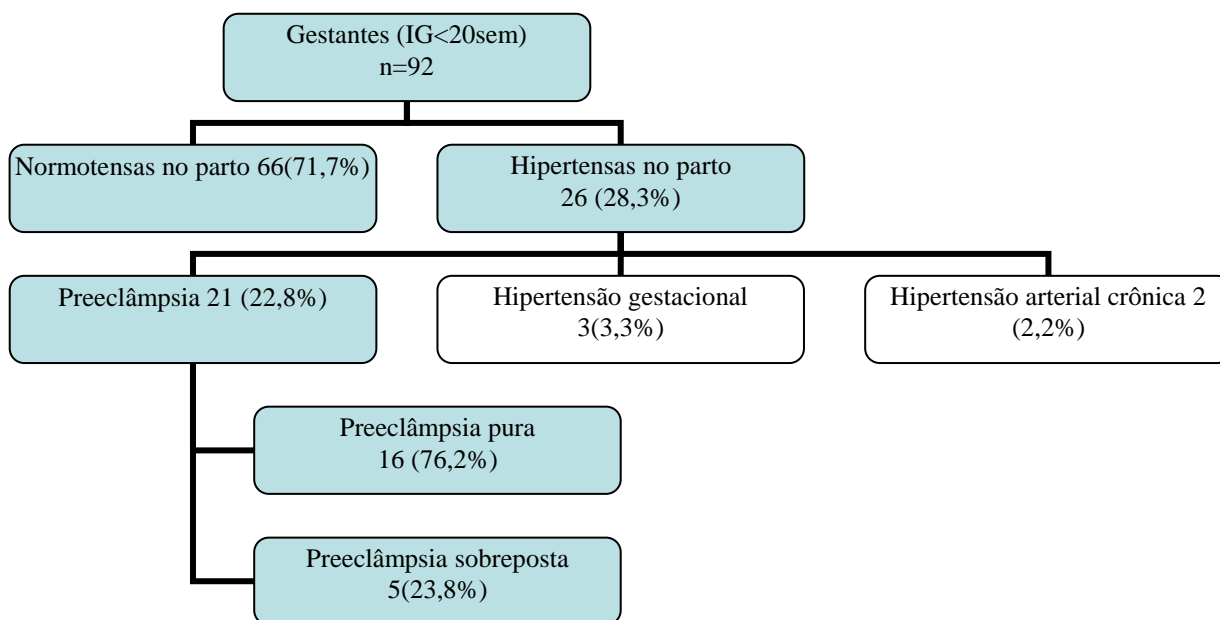


Figura 5: Diagrama do recrutamento pré-natal e seguimento das gestantes até o parto, por estado hipertensivo

Para fins de análise comparativa serão considerados apenas os 21 casos de PE (pura ou sobreposta) e as 66 mulheres normotensas (controles), totalizando 87 casos. Os três casos de hipertensão gestacional e os dois casos de hipertensão arterial crônica com bom controle no momento do parto foram excluídos da análise

4.2 Métodos:

As 87 gestantes selecionadas foram encaminhadas para coleta de amostra de urina, em dois períodos da gestação, durante sua consulta de pré-natal:

- Primeiro período: ≤ 20 semanas gestacionais
- Segundo período: > 20 semanas gestacionais

Todos os casos tinham como critério de inclusão, pelo menos uma coleta antes de 20 semanas gestacionais. No entanto, em 76(82,6%) delas a segunda amostra de urina, após 20 semanas gestacionais, foi obtida (Figura 6).

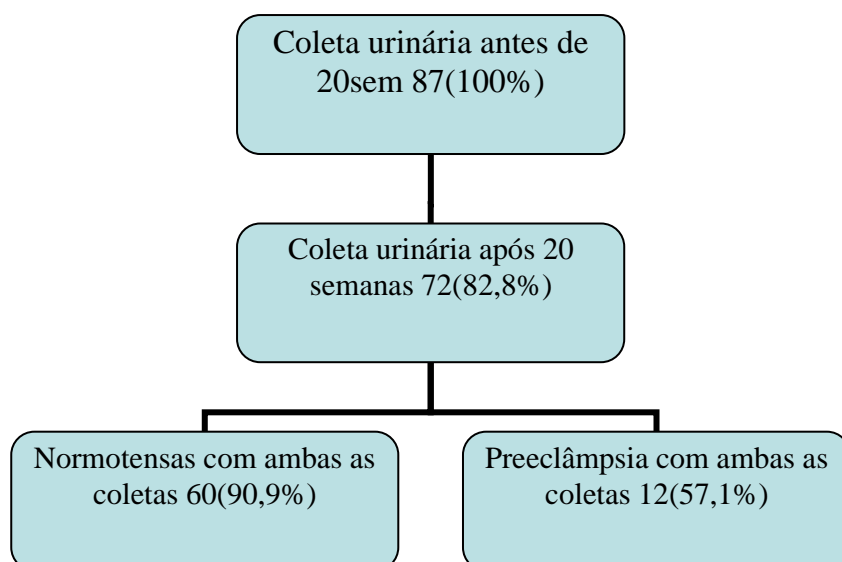


Figura 6: Diagrama de coleta das amostras urinárias nas gestantes recrutadas

4.2.1 Coleta e análise dos dados

Primeira etapa: Foi realizada a seleção das pacientes, a coleta e o armazenamento da urina em tubos Eppendorf rotulados com um número sequencial. Os dados clínicos coletados na entrevista da primeira consulta foram armazenados em um banco de dados informatizado (Medquest, 2015).

Segunda etapa: As dosagens de endoglinina urinário foram realizadas no Laboratório de Angiogênese do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. As concentrações de creatinina urinária foram obtidas por técnica quantitativa colorimétrica, no laboratório CEMEFÉ-HC_UFMG.

Terceira etapa: A análise dos desfechos clínicos. Uma busca ativa de dados do parto e diagnósticos de interesse foram realizados através de visita do pesquisador a várias maternidades de Belo Horizonte, cidades próximas, uma vez que nem todas tiveram sua assistência ao parto realizada no HC-UFMG. O diagnóstico de PE foi consultado diretamente no prontuário. Nos casos em que essa busca não foi efetiva os dados foram obtidos através de contato telefônico com a mulher. Os desfechos de interesse no seguimento da coorte foram classificados, no momento do parto, em normotensa, PE, Hipertensão arterial crônica, PE sobreposta a Hipertensão arterial crônica ou Hipertensão gestacional, segundo achados clínicos e laboratoriais descritos no Quadro 1.

4.2.2 Questões éticas e financiamento da pesquisa

A participação foi voluntária e houve consentimento verbal e assinado prévio das gestantes em participar do estudo. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG, sob o protocolo ETIC 462/08.

O estudo recebeu apoio financeiro FAPEMIG, captado pelo Edital Universal, Projeto CDS APQ-01112-09. Contou com a participação de alunos bolsistas e voluntários do Programa de Iniciação Científica da Faculdade de Medicina da UFMG. Os alunos de graduação participaram do recrutamento, coleta de urina, processamento e congelamento dos espécimes, assim como no registro de dados clínicos em base de dados eletrônica

4.2.3 Coleta de urina materna

As gestantes selecionadas tiveram uma amostra de urina coletada simultaneamente a sua consulta de pré-natal, uma vez antes de 20 semanas e outra após 20 semanas gestacionais. Foi coletada amostra aleatória de cerca de 50ml de urina em recipiente estéril sob orientações de limpeza externa com água e sabão. Cerca de 5ml da urina pura não centrifugada e 5ml de urina centrifugada (1000 a 1500 rpm/ 5 a 10 min.) foram congeladas para as dosagens dos marcadores urinários sEng e creatinina. Todas as amostras foram armazenadas em freezer -80°C, para as dosagens. A urina residual foi desprezada.

4.2.4 Técnica de dosagem de creatinina urinária

Para a dosagem desta substância na urina foi necessária uma pequena quantidade de amostra coletada. O método utilizado foi o cinético-colorimétrico (Analisa cat 435) que é uma técnica para determinação quantitativa em que a creatinina presente na amostra reage com o picrato em meio alcalino originando um complexo colorido. A velocidade de formação desse complexo é medida em um curto período evitando a interferência de outros compostos formados. Para a dosagem, a urina da paciente foi ser diluída (1:50) com água deionizada. Pipetou-se 100µL da amostra em 1ml de reagente de trabalho (ácido pícrico 25mmol/L + tampão hidróxido de sódio 400mmol/L e Brij 35 1g/L a 1:1) em cubeta pré-aquecida (37°C), agitou-se a amostra e o cronômetro foi imediatamente acionado. Uma primeira leitura (A30) em espectrofotômetro (500nm) foi realizada aos 30 segundos iniciais da reação para eliminar o efeito dos interferentes de reação rápida. Aos 90 segundos de reação a segunda leitura

(A90) foi realizada em espectrofotômetro (filtro 500nm) antes que os interferentes de reação lenta possam ter efeitos significativos. Desta forma isola-se a formação do complexo creatinina-quelante e a determinação colorimétrica do produto final torna-se livre de interferentes. A solução padrão de creatinina do kit apresenta concentração 2mg/dl. Também foram realizadas 2 leituras deste padrão (Ap 30 e Ap 90) utilizando 100µL da solução estoque a 1ml do reagente de trabalho.

As leituras foram obtidas em absorbância. O fator de correção utilizado foi calculado através da Concentração do padrão (2mg/dl) dividindo-se pelo resultado obtido da subtração das leituras Ap90- Ap30. Este fator de correção foi utilizado para obter o resultado em concentração ao multiplicá-lo pelo delta das leituras de 90 e 30 segundos (A90 - A30) das leituras das amostras de urina. Os cálculos empregados para calcular a concentração final de creatinina urinária foram:

$$\Delta A \text{ do teste} = A_{90 \text{ segundos}} - A_{30 \text{ segundos}}$$

$$\Delta P = (A_{90} - A_{30}) \text{ Padrão}$$

$$\Delta T = (A_{90} - A_{30}) \text{ Teste}$$

$$C_p = \text{concentração do padrão em mg/dl}$$

$$C_t = \text{concentração do teste em mg/dl}$$

$$F_c = C_p / \Delta P \quad (F_c = 2 / (A_{p90} - A_{p30}))$$

$$C_t = F_c \times \Delta T$$

$$C_t \times \text{fator de diluição (50)} = \text{Concentração final (mg/dl)}.$$

O ensaio técnico de dosagem de creatinina foi realizado pela Dr^a. Jacqueline Braga Pereira . Esta curva foi construída conforme orientações do fabricante . Usamos apenas os resultados que foram realizados por ela.

4.2.5 Dosagem do fator de angiogênese (Endogлина)

A análise quantitativa do fator de angiogênese foi realizada pela técnica de EnzymeLinkedImunosorbentAssay (ELISA), que se baseia no princípio de “sanduíche” de anticorpos. Para detecção urinária da Endogлина foi utilizado kit DuoSet ELISA comercial da R&D Systems. Foi utilizada uma placa de Enzyme Linked IMMunosorbent Assay (ELISA) para o fator de angiogênese Endogлина. O ensaio foi realizado conforme o protocolo de ELISA.

Técnica de dosagem

As amostras armazenadas em freezer -80° foram levadas para o Laboratório de Angiogênese do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG campus Pampulha, com o cuidado de estarem preservadas em gelo seco.

Sensibilização da placa de ELISA para detecção de Endogлина

No 1º dia a realização do ensaio iniciou-se pela adição de anticorpos de captura 100µl especificamente diluído em tampão PBS a 4 µg/mL a uma microplaca para ensaio de ELISA com 96 poços estéril. Sendo esta, a fase de sensibilização da placa com anticorpos específicos. Essa placa ficou incubada overnight dentro da geladeira a 4°C, em uma caixa vedada e umedecida.

Segunda etapa do ensaio para detecção de Endogлина: bloqueio

No segundo dia as amostras foram descongeladas, foi retirado todo o conteúdo dos poços vertendo a placa na pia de uma só vez. O excesso de anticorpo foi removido por lavagens manuais com tampão PBS-tween20 (100µl/poço) cinco vezes usando-se pipeta de multicanal. Depois, foram colocados em cada poço 300 µL de tampão de bloqueio com 300 µL de reagente diluente (1:10/ BSA 1% albumina serum bovina) em cada orifício. A placa

foi vedada e incubada por uma hora em temperatura ambiente. Após esse tempo, o conteúdo da placa foi retirado e novas lavagens manuais foram realizadas com tampão PBS-tween20.

As amostras já centrifugadas, contendo o antígeno que se desejava quantificar, foram então adicionadas (100µl/poço) em duplicatas aos poços da placa previamente identificadas.

Padronização do padrão da curva

O padrão foi reconstituído com 10,5mL com reagente diluente (kit diluído 1:10). Para o ensaio foi diluído a 10.000 pg/ml com reagente diluente. Foi feita a curva Padrão da seguinte diluição:

Tubo 60 µL padrão + 450 µL de reagente diluente= 510 µL de solução
510 µL de solução a 10.000pg/ml diluições seriadas 1:2.

1.	510 µL solução estoque.....	10.000pg/ml
2.	250 µL reagente diluente + 250 µL solução 1	5.000 pg/ml
3.	250 µL reagente diluente + 250 µL solução 2.....	2.500 pg/ml
4.	250 µL reagente diluente + 250 µL solução 3.....	1.250 pg/ml
5.	250 µL reagente diluente + 250 µL solução 4.....	625 pg/ml
6.	250 µL reagente diluente + 250 µL solução 5.....	312,5 pg/ml
7.	250 µL reagente diluente + 250 µL solução 6.....	156,25 pg/ml
8.	250 µL reagente diluente + 250 µL solução 7.....	78 pg/ml
9.	250 µL reagente diluente + 250 µL solução 8	39 pg/ml
10.	250 µL reagente diluente + 250 µL solução 9.....	19,5 pg/ml
11.	250 µL reagente diluente + 250 µL solução 10	9,75 pg/ml

As diluições seriadas das soluções da curva contendo 8 padrões de concentrações diferentes foram pipetadas nos orifícios da placa e incubadas overnight a 4°C. Nesta etapa ocorre a ligação dos antígenos da amostra com os anticorpos aderidos previamente à placa.

Foram pipetados 100 μ L do branco e dos padrões em duplicatas em cada orifício da placa da curva obtida através da diluição, contendo 8 padrões de concentrações diferentes foram pipetadas nos orifícios da placa .

As amostras foram descongeladas e centrifugadas a 12000 rpm por 10min, foram diluídas 1:3 com reagente diluente. Adicionaram-se as amostras urinárias, o qual tinha o antígeno pesquisado, que era o objetivo quantificar. Ocorreu a partir desse momento a ligação dos antígenos com os anticorpos, incubada a placa overnight a 4°C.

Terceira etapa do ensaio: detecção e revelação

No terceiro dia desprezou-se todo o conteúdo da placa. Foram realizadas lavagens com tampão de lavagem 5 vezes, afim de retirar o excesso da reação e adicionou-se (100 μ l/poço), anticorpo de detecção biotilado (part 842595), capaz de detectar a reação anterior entre anticorpo/antígeno, já ocorrida entre o antígeno da amostra e o anticorpo da placa, finalizando o chamado “sanduíche” de ELISA. Esse processo ficou incubado ao abrigo da luz (2h).

Após o processo de incubação foram feitas novas lavagens com tampão de lavagem 5 vezes com pipeta multicanal. Em seguida, o conteúdo dos poços das placas foi aspirado seguido de novas lavagens (4x), e adicionou-se a estreptovidina (1:200/100 μ l/poço) (HRP part 890803). A placa da reação foi coberta com papel alumínio ao abrigo da luz por 20 minutos, procedeu-se nova lavagem (4x) e adicionou-se a solução substrato (100 μ l/poço- reagente de cor A e reagente de cor B 1:1 ref. DY 999). Observou-se o aparecimento de uma cor azulada em todos os orifícios. Adicionou a solução stop para a paralização da reação em todos os orifícios. A cor passou a ser amarela

Foi realizada leitura em leitor de microplaca de ELISA, em absorbância, num comprimento de onda de 492nm. A conversão de absorbância para pg/ml foi obtida por meio da média aritmética da somatória das absorbâncias.

O ensaio de ELISA para ENDOGLINA foi padronizado segundo o protocolo existente e cedido por colaboradores do Laboratório de Angiogênese do ICB enquanto a curva para o ensaio para Endoglina foi inteiramente padronizado em nosso laboratório para dosagens em urina humana, pela Dr^a. Jacqueline Braga Pereira. Esta curva foi construída conforme orientações do fabricante e as diluições foram adequando-se a diluição dos padrões e anticorpos de modo a tornar possível a detecção da Endoglina na urina.

4.3 Método estatístico

4.3.1 Cálculo amostral

Para a estimativa do tamanho amostral empregou-se o programa estatístico GPower 3.1.3 da Universidade de Dusseldorf (Gpower, 2015), que requer a escolha do nível de significância (α), da potência do teste (β) e do tamanho do efeito pretendido. Optou-se por escolher um nível de significância e uma potência de teste standard: $\alpha=0.05$ e $\beta=80\%$. A amostra foi estimada em 71 gestantes, para aferir diferenças médias em um estudo longitudinal, admitindo-se os seguintes parâmetros: um erro alfa de 5%, erro beta de 20%, diferença média esperada na concentração de endoglina de (Endoglina urinário em gestantes normotensas: 22.9pg/mgc (5.5–73.3) e em gestantes hipertensas 59.9pg/mgc (41.4–125.4) $p < 0.001$, (Buhimschi *et al.*, 2010); portanto efeito tamanho moderado (valor: 0,50).

4.3.2 Coleta e armazenamento de dados

A gestante recrutada para a coorte foi seguida, de forma paralela ao seu pré-natal, observando-se o comportamento da pressão arterial e com investigação complementar adequada, no caso de suspeita de PE. Dados de interesse para o estudo como peso, altura, cor de pele, história obstétrica, doenças intercorrentes, medicação em uso, valores de pressão arterial, idade gestacional, ultrassonografias, proteinúria de fita, dados do parto e suas complicações foram utilizados para compor o banco de dados específicos deste estudo. Para isto empregou-se a base eletrônica de apoio aos estudos clínicos, o Medquest, cedida pela Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (Medquest, 2015).

4.3.3 Análise dos dados

Os grupos de estudo, tomados individualmente ou em conjunto, foram apresentados através de suas variáveis descritoras, utilizando-se de medidas-resumo. A média e respectivo desvio-padrão foram utilizados para descrever variáveis numéricas com distribuição normal, como a idade da mulher, estatura, peso e IMC, pressão arterial da gestante e idade gestacional. A mediana, valor máximo e mínimo foram empregados para descrever variáveis numéricas com distribuição assimétrica: paridade, Apgar, dosagens de endogлина e creatinina. A natureza da distribuição das variáveis foi definida através da avaliação visual do histograma de frequência e, na dúvida, empregou-se o teste de Kolmogorov Smirnov. As variáveis não numéricas foram descritas através de contagem simples, percentuais absolutos e relativos.

Em seguida cada grupo de estudo teve individualmente suas dosagens urinárias de endogлина e creatinina comparadas, segundo momento da coleta urinária: antes e após 20 semanas gestacionais. Para isto empregou-se o teste de medianas repetidas, Wilcoxon.

As características gestacionais e neonatais de cada grupo também foram comparadas estatisticamente através dos testes t-médias, teste de medianas, qui-quadrado de Pearson e

teste exato de Fisher, dependendo da natureza da variável e de sua distribuição. O grupo de gestantes normotensas foi comparado ao grupo de gestantes que desenvolveu PE, quanto às dosagens urinárias realizadas, através do teste de medianas independentes, Mann Whitney.

O potencial das dosagens urinárias realizadas, em ambos os momentos da gestação, para prever a ocorrência de PE no momento do parto foi aferido através da metodologia de regressão logística univariada. Para este objetivo, empregou-se a função logística binária do software estatístico IBM SPSS, versão 22. A variável dependente foi a ocorrência de PE e as independentes foram as dosagens de endoglina, creatinina e relação endoglina / creatinina, tomadas individualmente. O resultado foi registrado na forma de razão de chances e p-valor a partir do teste de Wald.

Empregou-se o software estatístico IBM SPSS, versão 22 para realização da análise estatística descritiva e inferencial. Os testes de hipóteses foram acertados para significância de 5%.

.

5. RESULTADOS

5.1 Parâmetros clínicos do acompanhamento das gestações desde o recrutamento até o momento do parto.

As 87 gestantes acompanhadas no estudo apresentavam características clínicas, gestacionais e fatores de risco para PE, conforme dados sumariados na Tabela 1. A maioria das gestantes era primigesta, com cor de pele não branca e apenas cinco (5,7%) delas eram portadoras de hipertensão arterial prévia a gestação. Chama atenção também que a idade gestacional no momento em que as mulheres foram recrutadas para o estudo era de apenas 13 semanas.

Tabela 1: Características clínicas e epidemiológicas das gestantes da coorte, no momento do recrutamento (N=87)

Variável clínica	n	Valores
Idade (anos), média ±DP	87	26,53±7,65
Estatura (cm), média ±DP	85	1,61±0,69
Peso (kg), média ±DP	70	66,63±13,71
IMC (kg/m ²), média ±DP	69	24,85±4,86
Cor da pele (não branca)	87	52(59,8%)
Paridade Mediana (amplitude)	87	0(0 a 4)
Primíparas (n,%)	87	53(60,9%)
Primipaternidade (n,%)	87	8(23,5%)
Idade Gestacional* (sem), média ±DP	87	13,21±3,96
Hipertensão arterial crônica (n,%)	87	5(5,7%)
Pressão arterial Sistólica (mmHg), média ±DP	70	111,49±11,37
Pressão arterial Diastólica (mmHg), média ±DP	70	70,40±9,19
História de PE	87	6(6,9%)

*corrigida pelo 1o. ultrassom. DP: desvio padrão; IMC: índice de massa corporal; sem: semana; HELLP: hemolysis-liver-enzymes-low-plaquets

Entre as 87 gestantes acompanhadas, a maior parte usava apenas medicamentos recomendados na gestação para prevenção da anemia: sulfato ferroso e ácido fólico. No entanto, quatro faziam uso contínuo de metildopa, três de Ácido Acetil Salicílico (AAS), duas usavam antidepressivos (Amitriptilina, fluoxetina, paroxetina), uma usava antiretroviral, uma usava antiasmáticos (beclometasona e salbutamol), uma fazia uso de triiodotironina e uma utilizava a medicação oxibutina, para controle de incontinência urinária.

Após o seguimento de todo período gestacional, as mulheres foram reavaliadas no momento do parto. Nesta oportunidade, os achados clínicos e obstétricos foram analisados e os dados encontram-se estatisticamente descritos na Tabela 2. A incidência de PE neste grupo foi de 24,1%. Não houve nenhum caso de eclâmpsia.

Tabela 2: Características clínicas e obstétricas das gestantes da coorte, no momento do parto (n=87)

Variável clínica	N	Valores
Peso (kg), média ±DP	74	74,33±13,58
IMC (Kg/m ²), média ±DP	75	28,69±5,02
Ganho de peso (IMC), média ±DP	54	10,49±5,12
Idade Gestacional*(sem), média ±DP	83	38,17±2,85
Parto cesariana(n, %)	84	34(39,1%)
HELLP síndrome	87	2(2,3%)
PE	87	21(24,1%)
Pressão arterial Sistólica (mmHg), média ±DP	87	125,91±17,76
Pressão arterial Diastólica (mmHg), média ±DP	87	81,30±13,52

*corrigida pelo 1o ultrassom. DP: desvio padrão; IMC: índice de massa corporal; sem: semana; HELLP: hemolysis-liver-enzimes-low-plaquets.

Em relação às complicações da PE, houve dois casos que desenvolveram a Síndrome HELLP. Ambas eram gestações a termo, com idade gestacional no momento do parto de 39 semanas. Uma delas era primípara, com idade de 18 anos e os níveis pressóricos atingiram valores de 170/110mmHg. O neonato pesou 2700g e o Apgar foi 8e 9no primeiro e quinto minutos, respectivamente. A outra gestante, secundigesta de 34 anos, com histórico de

primiparidade foi incluída no estudo com 16 semanas. Na internação para o parto, a pressão arterial atingiu valores de 140/110mmHg. O Neonato pesou 3840g, sendo o Apgar 9 e 9 no primeiro e quinto minutos, respectivamente. Nenhuma das duas era portadora de hipertensão arterial prévia e evoluíram favoravelmente, sem internação em UTI.

Em relação ao resultado perinatal das gestações seguidas nesta coorte, a morte intrauterina e neonatal precoce ocorreram duas vezes (Tabela 3). Não houve nenhum caso materno, de internação em UTI. Foram verificados quatro casos de CIUR, sendo dois deles em gestantes normotensas e os outros dois em gestantes que desenvolveram PE.

Tabela 3: Características clínicas e epidemiológicas dos neonatos, no momento do parto (n=87))

Variável clínica	N	Valores
Idade Gestacional*(sem), média ±DP	83	38,17±2,85
Peso neonatal, média ±DP	87	2,96±669,87
Apgar 10 minuto, mediana (amplitude)	84	8(1 a 10)
Apgar 50 minuto, mediana (amplitude)	84	9(1 a 10)
Morte intrauterina	87	1(1,1%)
Morte neonatal precoce	87	1(1,1%)
UTI neonatal (n, %)	87	3(3,4%)
CIUR	87	4(4,6%)

* corrigida pelo 1o ultrassom. DP: desvio padrão; sem: semana; UTI: unidade de tratamento intensivo; CIUR: crescimento intrauterino restrito.

5.2 Análises comparativas da evolução das gestações, segundo diagnóstico de PE no parto.

Em coerência com a proposta do estudo de verificar as diferenças entre as gestantes que desenvolveriam PE no final da gestação, em relação as que permaneceriam normotensas, descrevemos de forma comparativa as características clínicas e epidemiológicas dos dois

grupos (Tabela 4). Podemos ver nesta tabela que as mulheres com diagnóstico de PE no parto já apresentavam IMC superior às que permaneceriam normotensas ($p=0,034$). A história pregressa de PE foi mais frequente em gestantes hipertensas ($p=0,003$), assim como a pressão arterial sistólica e a pressão arterial diastólica no recrutamento já eram superiores ($p=0,003$ e $p=0,001$, respectivamente).

Tabela 4: Características clínicas e epidemiológicas das gestantes normotensas e com PE, no momento do recrutamento (n=87)

Variável clínica	Mulheres normotensas (n=66)	Mulheres PE (n=21)	P
Idade (anos), média \pm DP	25,83 \pm 7,84	28,71 \pm 6,69	0,133*
Estatutura (cm), média \pm DP	1,60 \pm 0,06	1,64 \pm 0,08	0,018*
Peso (kg), mediana (amplitude)	60,00(44 a 90)	73,50(54,10 a 113,00)	0,004**
IMC (kg/m ²), mediana (amplitude)	23,34(19,03 a 37,46)	26,07(17,67 a 40,23)	0,034**
Cor da pele (não branca)	41(62,1%)	11(52,4%)	0,428#
Paridade Mediana (amplitude)	0(0 a 3)	1(0 a 4)	0,055**
Primíparas (n,%)	44(66,7%)	9(42,9%)	0,051#
Primipaternidade (n,%)	7(31,8%)	1(8,3%)	0,123#
Idade Gestacional* (sem), média \pm DP	13,33 \pm 4,11	12,81 \pm 3,922	0,600*
Pressão arterial Sistólica (mmHg), média DP	109,21 \pm 9,9	118,11 \pm 12,92	0,003*
Pressão arterial Diastólica(mmHg),média \pm DP	68,13 \pm 8,5	77,24 \pm 7,93	<0,001*
História de PE	1(1,5%)	5(23,8%)	0,003##

PE: preeclâmpsia, DP: desvio padrão; sem: semana; *Teste-t de medias; **Mann-Whitney, #qui-quadrado, ##Teste de Fisher

No momento do parto, diferenças importantes também foram observadas na análise comparativas destes dois grupos (Tabela 5). A idade gestacional ao nascer e o peso dos neonatos das gestantes com PE foram significativamente menores do que os dos neonatos das que terminaram as gestações normotensas ($p=0,045$ e $0,013$). A pressão arterial sistólica e diastólica das gestantes foi estatisticamente maior no grupo que desenvolveu PE, como era de se esperar ($p<0,001$, para ambos os parâmetros).

Tabela 5: Características clínicas e epidemiológicas das gestantes normotensas e com PE, no momento do parto (n=87)

Variável clínica	Mulheres normotensas (n=66)	Mulheres PE (n=21)	P
Peso (kg), média ±DP	73,29±12,88	77,97±15,67	0,211
IMC (Kg/m ²), média ±DP	28,08±4,59	30,25±7,17	0,394*
Ganho de peso (IMC), média ±DP	10,77±4,86	9,17±5,57	0,318*
Idade Gestacional(sem), média ±DP	38,33±2,95	36,41±3,68	0,045*
Parto cesariana (n, %)	23 (34,84%)	11(52,38%)	0,199#
Peso neonatal, gramas média ±DP	3054,23±581,16	2643,48±831,67	0,013*
Apgar 1 minuto, mediana (amplitude)	8(1 a 10)	8(4 a 10)	0,460**
Apgar 5 minutos, mediana (amplitude)	9(1-10)	9(6-10)	0,492**
UTI neonatal (n, %)	3(4,5%)	0(0%)	1,000#
CIUR	2(3,0%)	2(9,5%)	0,244##
Pressão arterial Sistólica (mmHg), média ±DP	117,88 ±9,13	151,14±14,26	<0,001**
Pressão arterial Diastólica(mmHg), média ±DP	75,48±6,98	99,57±12,85	<0,001**

PE: preeclâmpsia, UTI: unidade de tratamento intensivo, CIUR: restrição de crescimento intrauterino corrigida pelo 1o ultrassom, *Teste-t de medias; **Mann-Whitney, #qui-quadrado de Pearson, ##Teste de Fisher

5.3 Variações nas concentrações urinárias de endogлина e creatinina durante a gestação, em mulheres normotensas e com PE.

As coletas urinárias durante pré-natal seguiram a programação, acontecendo uma vez na primeira metade da gestação e novamente na 2ª metade. A idade gestacional média foi na primeira coleta foi 13,4±4,1 semanas, enquanto que na segunda coleta foi 31,8±3,6 semanas. Não houve coleta urinária durante o parto.

Foram realizadas 159 dosagens de endogлина em amostras urinárias. Antes de 20 semanas gestacionais, a dosagem foi realizada em 66 mulheres normotensas e em 21 mulheres que desenvolveriam PE. Após 20 semanas gestacionais, a dosagem foi possível em 60 mulheres normotensas e 12 que desenvolveriam PE.

A presença de concentrações variáveis de endogлина nas 159 amostras urinárias mostrou que esta dosagem é possível e que existem oscilações em sua excreção. No momento do recrutamento as concentrações urinárias variaram de 1,57pg/mL a 7,77pg/mL (mediana 2,63 pg/mL). Na segunda metade da gestação, variaram de 1,64pg/ml a 7,02pg/ml (mediana 2,66 pg/mL).

5.3.1 Variação das concentrações urinárias de endogлина em mulheres normotensas ao longo da gestação

No grupo de mulheres normotensas, as concentrações urinárias de endogлина dosadas antes de 20 semanas apresentaram valor mediano de 2,63 pg/mL, variando de 1,57 pg/mL a 7,77 pg/mL. Neste mesmo grupo, as dosagens após 20 semanas tiveram valor mediano semelhante estatisticamente, de 2,66pg/mL variando de 1,64 pg/mL a 7,02pg/mL ($p= 0,868$, Figura 7).

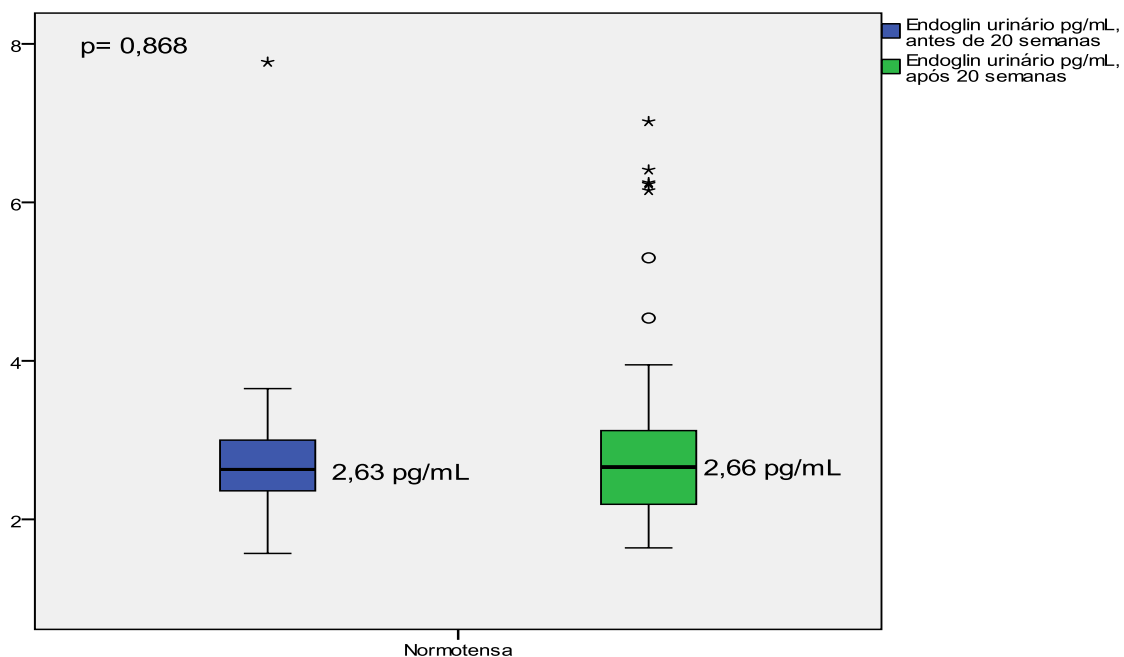


Figura 7: Evolução das concentrações de endoglin urinário durante a gestação em mulheres normotensas
*Teste Wilcoxon, medianas emparelhadas

5.3.2 Variação das concentrações urinárias de endoglin em mulheres que desenvolveram PE

No grupo de mulheres com PE, as concentrações urinárias de endoglin dosadas antes de 20 semanas apresentaram mediana 2,62pg/mL, variando de 1,94 pg/mL a 6,17 pg/mL. Neste mesmo grupo, as dosagens após 20 semanas mostraram valor mediano de 2,58pg/mL, variando de 2,07 pg/mL a 4,61pg/mL. Esta diferença não foi significativa ($p=0,875$, Figura 8).

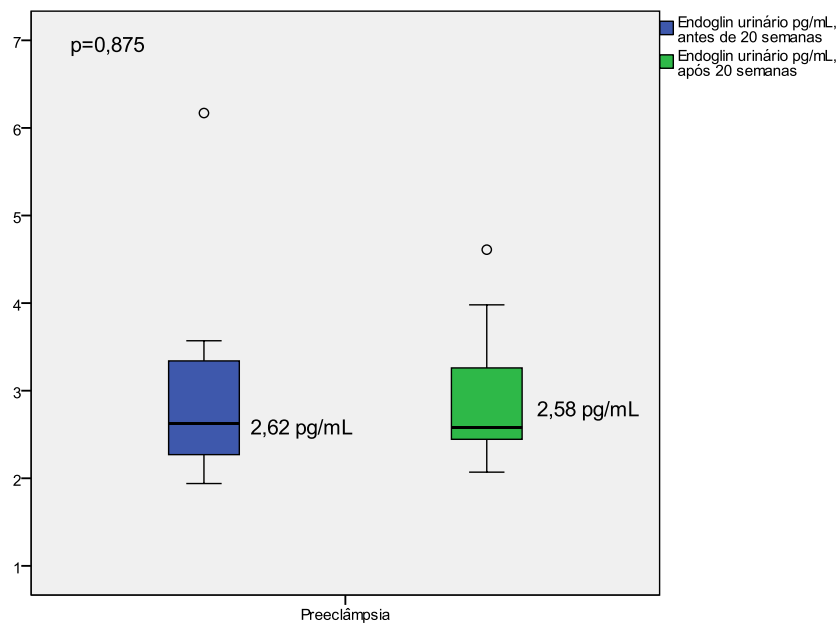


Figura 8: Evolução das concentrações de endogлина urinário durante a gestação em mulheres com PE

*Teste Wilcoxon, medianas emparelhadas

5.3.3 Comparação das concentrações urinárias de endogлина antes de 20 semanas gestacionais, entre mulheres normotensas e as que desenvolveram PE

Considerando todo o grupo de estudo no momento da primeira coleta, as concentrações urinárias de endogлина foram comparadas. Não houve diferença significativa entre os valores medianos do grupo de mulheres normotensas, comparados aos das que desenvolveram PE ($p=0,796$, Figura 9): Grupo de normotensas 2,63pg/mL (1,57 a 7,77pg/ml); grupo com PE 2,62pg/mL (1,94a 6,17pg/ml).

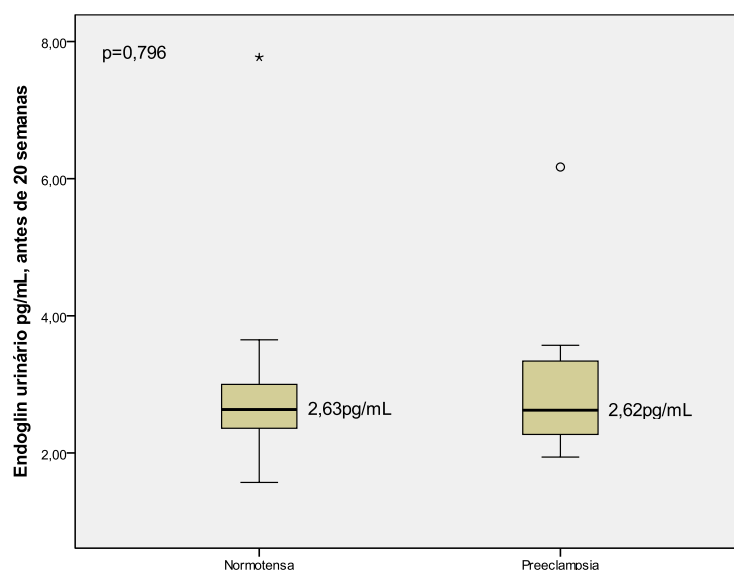


Figura 9: Comparação entre as concentrações urinárias de endoglina entre mulheres com PE e normotensas, dosadas antes de 20 semanas gestacionais

*Teste MannWhitney, medianas independentes

5.3.4 Comparação das concentrações urinárias de endoglina após de 20 semanas gestacionais, entre mulheres normotensas e as que desenvolveram PE

Considerando todo o grupo de estudo no momento da coleta urinária após 20 semanas gestacionais, as concentrações urinárias de endoglina foram comparadas. Não houve diferença significativa entre os valores medianos do grupo de mulheres normotensas, comparados aos das que desenvolveram PE ($p=0,803$, Figura 10): Grupo de normotensas 2,66pg/mL (1,64a 7,02pg/ml); grupo com PE 2,58pg/mL (2,07 a 4,61pg/ml).

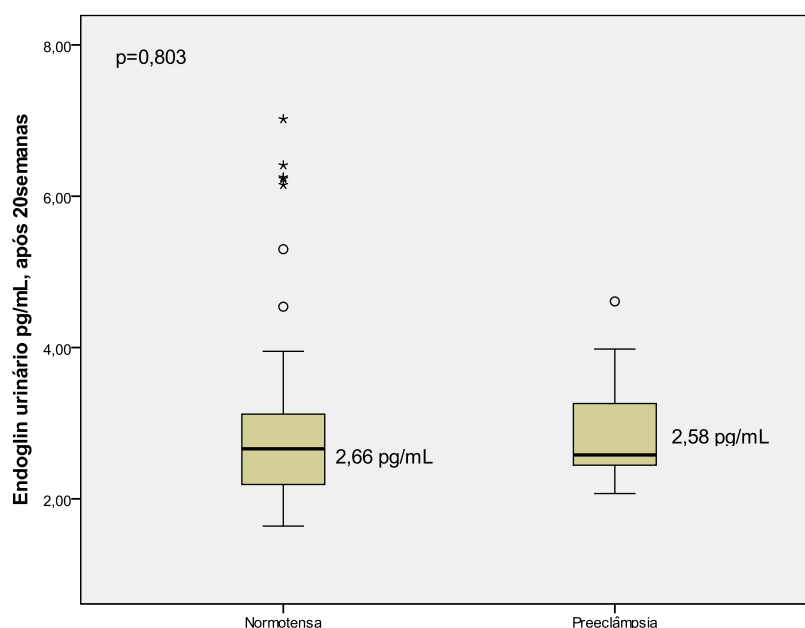


Figura 10: Comparação entre as concentrações urinárias de endoglina entre mulheres com PE e normotensas, dosadas após 20 semanas gestacionais

*Teste MannWhitney, medianas independentes

5.4 Variações nas concentrações urinárias de creatinina durante a gestação, em mulheres normotensas e com PE

Foram realizadas 141 dosagens de creatinina em amostras urinárias. Antes de 20 semanas gestacionais a dosagem foi feita em 75 mulheres. Cinquenta e seis mulheres eram normotensas e em 19 mulheres desenvolveriam PE. Após 20 semanas gestacionais, a dosagem foi possível 66 mulheres, sendo 55 mulheres normotensas e 11 que desenvolveriam PE.

A presença de concentrações variáveis de creatinina nas amostras urinárias mostrou que esta dosagem é possível com a técnica descrita e que existem oscilações em sua excreção. No momento do recrutamento as concentrações urinárias variaram de 0,5mg/dL a 214,8mg/dL

(mediana 27,0mg/dL). Na segunda metade da gestação a mediana foi de 27,0mg/dL, variando entre 1,0mg/dL a 390,3 mg/dL.

5.4.1 Variação das concentrações urinárias de creatinina em mulheres normotensas ao longo da gestação

No grupo de mulheres normotensas a concentração urinária de creatinina não mostrou mudança significativa, comparando-se os valores dosados antes de 20 semanas, em relação aos dosados após 20 semanas ($p=0,417$, Figura 11).

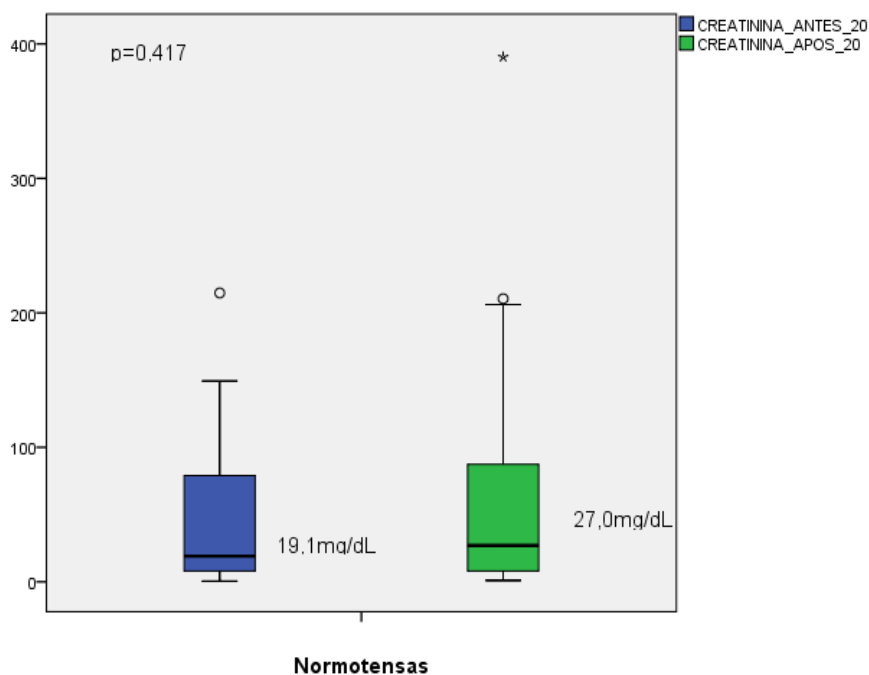


Figura 11: Concentrações de creatinina urinária durante a gestação em mulheres normotensas no momento do parto

*Teste Wilcoxon, medianas emparelhadas

5.4.2 Variação das concentrações urinárias de creatinina em mulheres que desenvolveram PE.

No grupo de mulheres com PE a concentração urinária de creatinina também não mostrou mudança significativa comparando-se os valores dosados antes de 20 semanas (79 mg/dL, 7 a 194,0mg/dL), em relação aos dosados após 20 semanas (27,0 mg/dL, variando de 5,4 a 86,0 mg/dL), $p=0,062$, Figura 12.No entanto nota-se que houve uma tendência para sua redução.

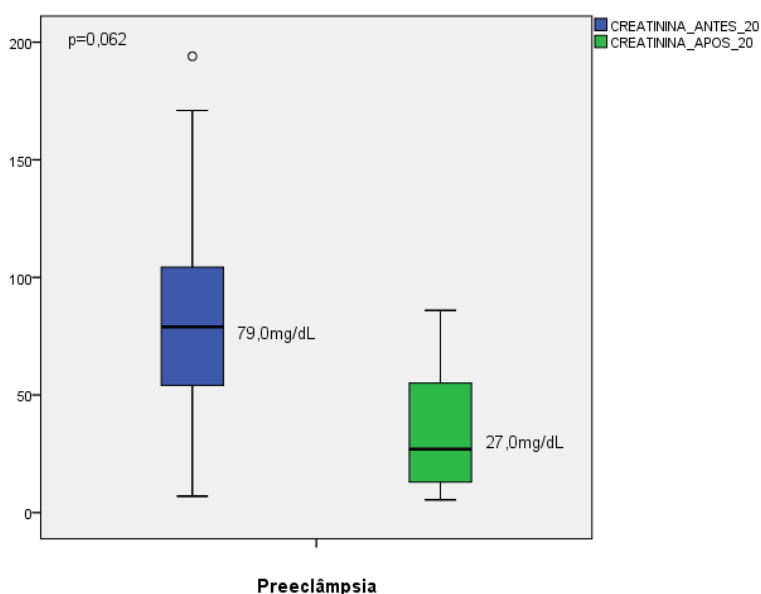


Figura 12: Evolução das concentrações de creatinina urinária durante a gestação em mulheres com PE
*Teste Wilcoxon, medianas emparelhadas

5.4.3 Comparação das concentrações urinárias de creatinina antes de 20 semanas gestacionais, entre mulheres normotensas e as que desenvolveram PE

Em seguida, foram comparadas as mulheres que desenvolveram PE com seus controles normotensos. O valor mediano da concentração de creatinina urinária em mulheres com PE

já estava elevado na 1ª metade da gestação 79,0mg/dL(7,0 a 194,0mg/dL) em mulheres que desenvolveriam PE (p=0,001, Figura 13). Em relação àquelas que permaneceriam normotensas. Os valores nas normotensas foram: 19,1mg/dL (0,5 a 214,8mg/dL).

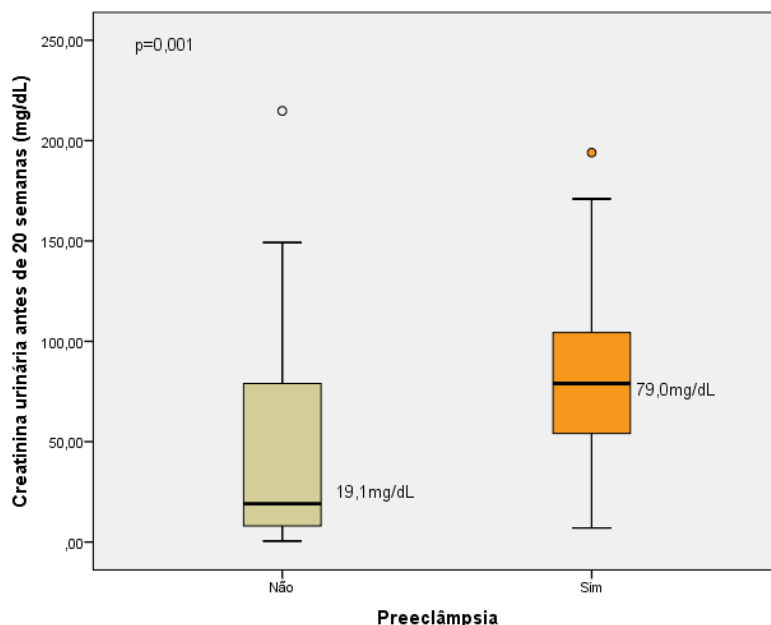


Figura 13: Comparação entre as concentrações urinárias de creatinina entre mulheres com PE e normotensas, dosadas antes de 20 semanas gestacionais

Teste de Mann-Whitney

5.4.4 Comparação das concentrações urinárias de endogлина após de 20 semanas gestacionais, entre mulheres normotensas e as que desenvolveram PE

Na 2ª metade da gestação, não houve diferença significativa entre os valores medianos de creatinina urinária, comparando as gestantes normotensas com as gestantes que desenvolveram PE (p=0,816, Figura 14). Os valores foram 27,0mg/dL (1,0mg/dL a 390,0mg/dL) entre normotensas. Já no grupo da PE os valores foram 27,0mg/dL (5,4mg/dL a 86,0mg/dL).

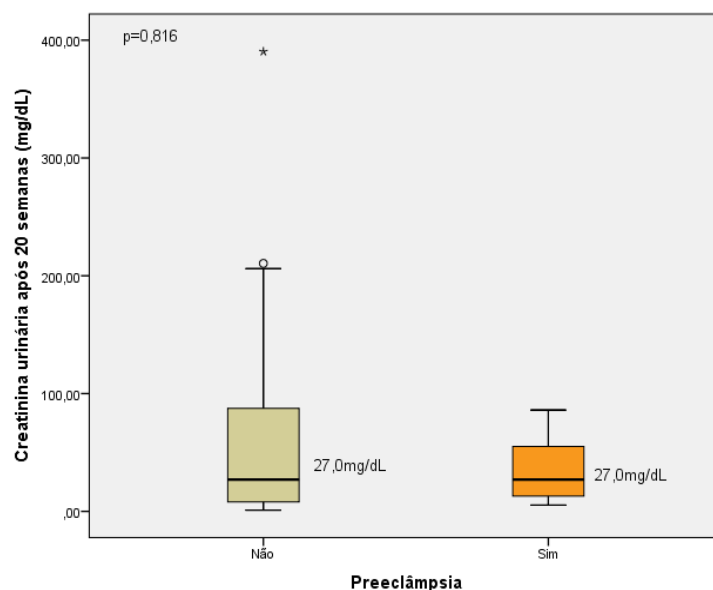


Figura 14: Comparação entre as concentrações urinárias de creatinina entre mulheres com PE e normotensas, dosadas após 20 semanas gestacionais

Teste de Mann-Whitney

5.5 Avaliação das concentrações urinárias de endoglina, creatinina e relação endoglina / creatinina, como marcadores da PE, em gestantes com fator de risco

Avaliando-se a capacidade preditiva das concentrações urinária de endoglina e creatinina encontradas nos dois grupos de estudo, uma análise de potenciais marcadores foi realizada. Observou-se que a cada mg/dL na concentração de creatinina em amostra de urina obtida antes de 20 semanas gestacionais, a chance de desenvolver PE aumenta 1,5% ($p=0,001$, Tabela 6). As demais dosagens, incluindo a relação endoglina /creatinina não foram significativas.

Tabela 6: Análise univariada logística dos preditores urinários de PE estudados

Fator	n	Razão de chances	p
Endoglina antes de 20 semanas (pg/mL)	87	0,057	0,850
Endoglina após de 20 semanas (pg/mL)	72	-0,052	0,854
Creatinina antes de 20 semanas (mg/mL)	67	0,015	0,001
Creatinina após 20 semanas (mg/mL)	66	-0,006	0,405
Endoglina / Creatinina antes de 20 semanas	79	-3,509	0,077
Endoglina / Creatinina após de 20 semanas	63	-0,788	0,545

6. DISCUSSÃO

6.1 Contextualização do estudo e características da coorte estudada

A PE vem sendo estudada há décadas, mas ainda se mantém frequentemente associada a desfechos adversos na gravidez, tanto para o feto como para a gestante. Permanece como uma importante causa de morbimortalidade materna e fetal no país (Brasil, 2012). Uma grande parte destes óbitos poderia ser evitada se houvesse um acompanhamento antenatal diferenciado àquelas com fatores de risco já conhecidos ou a serem ainda determinados. Para isso é necessário que se busquem novos preditores da doença capazes de sinalizar anormalidades, mesmo antes dos sintomas.

A preocupação com a melhoria da saúde das gestantes e com o sucesso da gravidez é um assunto de interesse mundial. Atualmente, com a interferência direta das discussões no âmbito da Organização das Nações Unidas, que propôs os “8 Jeitos de Mudar o Mundo”, nas quais os países membros pactuaram ações específicas de melhoria na qualidade de vida até 2015 (Brasil, 2015c). Entre os Objetivos do Milênio (ODM), as metas número quatro e cinco: reduzir a mortalidade infantil e melhorar a saúde das gestantes estão diretamente influenciadas pela abordagem pré-natal adequada e controle das complicações da gravidez, entre elas, a PE.

A busca pela identificação e o controle da gravidez de risco, aliado a exames periódicos efetivos e sensíveis no momento do pré-natal, podem contribuir diretamente para a redução das complicações na gestação, parto e puerpério. Porém, a realidade brasileira já mostrou

que o Brasil não conseguirá atingir as metas traçadas pela ONU, pelo menos no que se refere à da morte materna (Brasil, 2012; 2015a). Uma das causas mais frequentes de óbitos maternos continua sendo as relacionadas à hipertensão arterial, ou seja, a abordagem adequada da PE influencia diretamente o mau desempenho do indicador brasileiro (Brasil, 2015a).

É busca dos profissionais de saúde, em centros obstétricos de pré-natal ou no parto, oferecer apoio, segurança e excelência no cuidado às gestantes. A qualidade da assistência prestada, fundamentada em evidências científicas é proposta para todos os níveis de cuidado à gravidez: primário, secundário e terciário (Brasil, 2012). Nesta prática, incluem-se tecnologias que apoiam o diagnóstico, como os exames laboratoriais cada vez mais adequados. E por isso, nos últimos anos, percebe-se a busca por inovações tecnológicas que possam detectar a PE, antes que a doença evolua para uma fase perigosa (Millman *et al.*, 2011).

Marcadores que se mostrem acessíveis, de baixo custo, não invasivos, com alta sensibilidade e especificidade são desejáveis. Para isto, além do sangue, a urina materna pode vir a se tornar um espécime útil para testes de rastreamento, agregando mais uma estratégia aos parâmetros clínicos já conhecidos (Poon e Nicolaides, 2014). Os achados do presente estudo nos levam a crer que este espécime tem o potencial de contribuir ainda mais para a rotina no pré-natal, a partir do momento em que se encontrar nele o elemento correto e os referenciais quantitativos para a predição da PE.

Ao estudar as concentrações de endogлина e creatinina excretadas na urina, abrem-se possibilidades de que, no futuro, estas dosagens possam apontar para uma sinalização precoce desta condição, ainda na primeira metade da gravidez. A análise dos resultados desta coorte traz uma importante e inédita contribuição neste sentido, pois aponta um possível marcador urinário de PE, a concentração de creatinina na primeira metade da gravidez.

Os eventos patogênicos específicos desencadeantes da PE, especialmente se mensuráveis antes das 20 semanas gestacionais, refletindo a placentação anormal e perfusão placentária reduzido, são de grande interesse clínico (Roberts e Lain, 2002; Polliotti *et al.*, 2003). Os marcadores bioquímicos, principalmente aqueles indicadores da disfunção endotelial e da ativação da coagulação estão entre os mais estudados (Conde-Agudelo *et al.*, 2004). A concentração de endoglina urinário em amostra única, não se mostrou nesta coorte de grande valor preditivo, nem quando foi corrigido pela creatinina, mas a creatinina isoladamente, sim. Estes achados serão melhor discutidos a seguir.

Um elemento analítico de rastreamento urinário já usado para o diagnóstico de PE tem sido a fita reagente da proteinúria, de forma simultânea à medida da pressão arterial (Bell, 2004). Entretanto, a baixa acurácia deste exame tem desestimulado seu emprego precoce no pré-natal para este fim (Morris *et al.*, 2012). O padrão-ouro da proteinúria está vinculado à coleta de urina de 24 horas, o que traz limitações como dificuldades na coleta, perda de parte da amostra e demora no resultado. Este último é muitas vezes impeditivo para a rapidez necessária para o diagnóstico, já que a gestante pode chegar ao serviço de saúde com um quadro grave da doença ou em trabalho de parto (Acog, 2013). A aferição da proteinúria no pré-natal não foi objeto deste estudo, que abordou as gestantes durante o pré-natal, obtendo amostra de urina aleatória em dois momentos: antes e após 20 semanas gestacionais.

Antes de se discutir os resultados laboratoriais em si, merecem destaque a metodologia empregada neste estudo. A possibilidade de se realizar uma abordagem longitudinal incluindo toda a gravidez foi uma experiência pioneira para este grupo de pesquisa. Por outro lado, muitos foram os desafios para que o estudo fosse concluído. Foi necessário a participação de inúmeros colaboradores, incluindo alunos de iniciação científica, professores e preceptores, nas várias etapas de recrutamento, seguimento, dosagens laboratoriais e análise.

O recrutamento envolveu gestantes com fatores de risco para PE, em um centro de referência obstétrica, procurando-se alocar um grupo mais heterogêneo possível, para a melhor

aproximação da realidade da atenção secundária. Nesta análise, a identificação de mulheres em situação de risco, pode ajudar na compreensão da patogênese da PE. O interesse aqui foi propor, para o grupo prioritário de risco, o rastreamento da PE com um método adicional aos epidemiológicos. Por isto mesmo, os resultados aqui apresentados se aplicam apenas às gestantes com características semelhantes às estudadas: primigestas, com PE prévia, obesas, hipertensas, entre outros fatores de risco já conhecidos para a doença.

Os critérios de inclusão e exclusão das gestantes foram obedecidos, conforme recomendados na metodologia proposta, o que conferiu uma boa qualidade às análises. Mesmo assim, acompanhar as gestantes desde o primeiro trimestre até o nascimento muitas vezes não foi tarefa fácil. Outro fator a se comentar é que as gestantes foram recrutadas no estudo por livre e espontânea vontade, assim como cada coleta urinária feita durante a consulta de pré-natal foi voluntária. Ocasionalmente uma paciente, mesmo recrutada e orientada inicialmente se recusou a colher a amostra programada para aquele dia. Isto é um dos fatores que explica porque entre as 87 gestantes recrutadas, 15 (17%) delas não tiveram uma segunda coleta de urina, na segunda metade da gestação e com maior perda entre as que desenvolveriam PE (Figura 5). Adicionalmente, algumas mulheres apresentaram a forma precoce da doença e por isto não coletaram amostra na segunda metade da gestação. No entanto, como o desfecho era conhecido, foram mantidas na análise. Em alguns casos, amostras de urina, colhidas, aliqüotadas em tubos ependorff, foram consideradas perdidas no momento do ensaio por não ter a quantidade suficiente, por estar ilegível no frasco a identificação.

Merece comentário que as gestantes, mesmo realizando o pré-natal no ambulatório do HC-UFMG, muitas das vezes tiveram o parto em outra instituição. Como o parto é um evento imprevisível algumas preferiram ou foram transferidas para outras unidades. Uma intensa busca ativa foi realizada em vários hospitais de Belo Horizonte. Algumas se internaram em outros serviços de saúde ou cidade, sem, contudo perder informação sobre seu desfecho primário, a PE. Apenas dois casos ficaram sem a informação precisa da idade gestacional no parto e este dado foi considerado perdido e não foram excluídos da análise.

Quanto ao perfil clínico e obstétrico da coorte no momento do recrutamento, as gestantes apresentavam características clínicas e epidemiológicas que justificaram sua inclusão. Destaca-se que a maioria não apresentava sinais de doença hipertensiva instalada, mas na maioria eram primigestas (60,9%) ou com primipaternidade (23,5%). Apenas cinco gestantes (5,7%) já eram hipertensas previamente à gestação. Os valores da PAS, PAD e dados antropométricos (peso, altura e IMC) foram cuidadosamente analisados no momento do recrutamento de todas as gestantes.

Outro fator favorável à realização desse estudo de predição, foi a idade gestacional no recrutamento de 13,2 semanas em média. Tal fato possibilitou uma avaliação pressórica antes de 20 semanas de gestação, a datação correta da gravidez, favorecendo o diagnóstico mais adequado da PE e de suas formas clínicas. O início precoce no pré-natal, visando a um bom acompanhamento assistencial, recomenda que a primeira consulta deve acontecer até o 3.º mês de gestação; o que caracteriza uma boa assistência em nossa comunidade.

Notou-se, ao final do estudo, uma alta incidência de casos de PE (24,1%), em relação à população geral 8% (Sibai *et al.*, 2005). Isto se deve basicamente aos critérios utilizados para recrutamento que considerou a existência de pelo menos um fator de risco gestacional. Por outro lado, a validade externa dos achados que aqui serão discutidos não se aplicam as gestantes de modo geral, como de atendimentos da atenção básica. Quanto ao resultado da gestação, verificou-se que os neonatos das gestantes com PE apresentaram um peso inferior comparado aos neonatos das normotensas ($p=0,013$). Embora este seja um achado relevante e já descrito em estudos prévios ele serve aqui para destacar a gravidade dos casos de PE estudados. Uma diminuição na perfusão útero-placenta associa-se a deficiência no crescimento durante o período perinatal (Venkatesha *et al.*, 2006; Corrêa Júnior *et al.*, 2009).

Para fins de análise comparativa entre gestantes normotensas no parto e gestantes com PE, foram considerados apenas os 21 casos de PE e os 66 de mulheres normotensas. Foram excluídos da análise os três casos de hipertensão gestacional e os dois casos de hipertensão

arterial crônica com bom controle no momento do parto, pois não poderiam ser consideradas grupo controle, tampouco tinham critérios para o diagnóstico de PE.

6.2 Análise comparativa entre o grupo de gestantes que desenvolveu preeclâmpsia e o que permaneceu normotenso

Analisando-se comparativamente as características clínicas epidemiológicas das gestantes normotensas em relação às que desenvolveram PE, alguns pontos podem ser destacados. Os grupos eram homogêneos quanto à idade da gestante ($p=0,133$) e idade gestacional no recrutamento ($p=0,600$), Tabela 4. Estes achados são importantes, pois não influenciarão nas diferenças ou semelhanças encontradas nas dosagens urinárias de creatinina e endoglibina solúvel. O início precoce do seguimento da coorte permitiu a avaliação de possíveis manifestações da PE já no início do pré-natal. A elevação da creatinina urinária antes de 20 semanas gestacionais no grupo de mulheres que iriam desenvolver a doença foi um achado inédito e surpreendente que será melhor discutido neste capítulo.

Já os índices antropométricos: peso e IMC já eram maiores na primeira metade da gravidez, naquelas que desenvolveram a doença ($p=0,004$ e $p=0,034$, respectivamente). Uma associação entre obesidade e PE já foi demonstrada previamente (Bianco *et al.*, 1998; Sebire *et al.*, 2001). A pressão arterial sistólica e diastólica das gestantes foi estatisticamente maior no grupo que desenvolveu PE, como era de se esperar, uma vez que incluiu mulheres com doença hipertensiva prévia ($p<0,001$, para ambos os parâmetros).

Um dos fatores fortemente relacionados à doença é a história pregressa, e nesse estudo é marcante o resultado encontrado, já que 23,8% das mulheres com PE tiveram esta doença em gestação anterior ($p=0,003$). O dado reforça a recomendação de que essas mulheres têm um risco diferenciado das demais. Portanto, necessitam de orientação e acompanhamento especializado no pré-natal, com o intuito de amenizar as chances da recorrência da doença.

No momento do parto, diferenças importantes também foram observadas na análise comparativas destes dois grupos (Tabela 5). A idade gestacional ao nascer e o peso dos neonatos das gestantes com PE foram significativamente menores do que os dos neonatos das que terminaram as gestações normotensas ($p=0,045$ e $p=0,013$). Um fator que pode explicar esta diferença é a interrupção da gravidez previamente em comparação com as normotensas, já que as mulheres com PE tiveram idade gestacional no parto inferior em relação as normotensas. Além disto, o peso neonatal tem relação com a severidade da doença hipertensiva, principalmente quando a insuficiência placentária é de grande importância (Chaim *et al.*, 2008; Cunningham *et al.*, 2010).

As diferenças pressóricas entre os grupos, também encontradas no momento do parto, fazem parte da própria fisiopatologia da PE ($p<0,001$). Por outro lado, no momento do parto, embora o IMC das gestantes com PE, superiores no recrutamento, não se mantém no momento do parto ($p=0,394$). Tal achado pode também ser explicado pela menor duração média da gestação no grupo com PE em relação às normotensas (36,4 semanas versus 38,3 semanas, $p=0,045$).

Este estudo não tem por objetivo avaliar preditores clínicos, mas sim novos preditores bioquímicos que possam no futuro se associar a eles para melhorar a capacidade preditiva desta doença. Em relação aos marcadores bioquímicos estudados, as concentrações urinárias da endoglina e da creatinina, importantes considerações merecem ser feitas.

Entre as pacientes acompanhadas, não foi possível detectar diferenças significativas nas concentrações urinárias de endoglina ao longo da gestação. Os valores medianos encontrados na urina antes e após 20 semanas foram semelhantes tanto nas mulheres que permaneceram normotensas ($p=0,868$, Figura 7), quanto nas que desenvolveram PE ($p=0,875$, Figura 8).

Estes achados nos levam a crer que, naquelas que não desenvolveram a doença, os níveis séricos desta substância tendem a permanecer estável ao longo da gravidez, pelo menos na urina. Estudos anteriores que dosaram este fator antiangiogênico já haviam descritos níveis

séricos de endoglina solúvel estáveis em gestantes normotensas (Levine *et al.*, 2006). Podemos também inferir que as alterações fisiológicas do sistema urinário, próprias da gestação, como o aumento expressivo do ritmo de filtração glomerular (Dunlop, 1979). não impactam de forma expressiva a excreção urinária da endoglina solúvel ao longo da gravidez. Estudos sobre a concentração urinária de endoglina solúvel na gestação são escassos para uma comparação. No entanto, Buhimschi *et al.* (2010) observaram uma elevação nestas concentrações ao longo do último trimestre gestacional, corrigidas pela concentração de creatinina, tanto em normotensas quanto em hipertensas. Nossa abordagem se deu por comparação entre a primeira e a segunda metade da gestação e, sob estes referenciais, a elevação não foi expressiva nas concentrações obtidas em amostra urinária aleatória única.

Em relação àquelas que desenvolveram PE, a ausência de diferenças na concentração urinária da endoglina antes e após 20 semanas gestacionais são intrigantes. Esperava-se um aumento na concentração deste fator ao longo da gravidez, naquelas que desenvolveram PE, refletindo diretamente os achados já descritos nas concentrações sanguíneas. Fatores antiangiogênicos circulantes como o sFlt1 e a própria endoglina solúvel, derivados da vascularização errônea da placenta tem valores aumentados elevados no plasma (Naljayan e Karumanchi, 2013). Valores séricos de endoglina parecem já se encontrar aumentados dois a três meses antes do aparecimento das manifestações clínicas da PE (Levine *et al.*, 2006). Gestantes com níveis séricos aumentado de endoglina solúvel entre 15 e 20 semanas, desenvolveram PE com maior frequência e seus bebês apresentam pesos inferiores a de bebês de gestações normais (Robinson e Johnson, 2007).

Especulamos que a concentração urinária de endoglina aferida em amostra aleatória única não tenha sido capaz de refletir a concentração sérica deste fator antiangiogêncio. Uma das possibilidades é grande variabilidade esperada na função renal da gestante com PE, que pode apresentar-se sem quaisquer anormalidades, preservando-se a capacidade excretora, até as formas graves de disfunção renal. Para isto, fizemos também a correção entre endoglina / creatinina em cada amostra urinária, mas o resultado não foi diferente. Desta forma, neste

estudo, a dosagem urinária de endoglina mesmo que corrigida pela creatinina, não foi um bom preditor da PE. (Tabela 6). Outra possibilidade para explicar este achado é que, a semelhança da eliminação de proteínas na urina, que é intermitente (Park *et al.*, 2013), a excreção urinária de endoglina também o seja e assim as diferenças só seriam encontradas em amostras de 24 horas. Estudos futuros com dosagem sérica e urinária simultâneas, amostras de 24 horas ou pelo menos a partir de várias amostras durante o dia, poderiam resultar em explicações mais conclusivas do que fizemos nesta abordagem.

Concentrações de endoglina solúvel urinário também já foram estudadas em 234 gestantes recrutadas no terceiro trimestre gestacional no estudo de Buhimschi *et al.* (2010). No entanto, tal estudo avalia apenas o terceiro trimestre da gravidez e as concentrações urinárias de endoglina corrigidas por creatinina mostraram-se elevadas neste grupo. Atribuímos as diferenças metodológicas do recrutamento e seguimento como pontos principais que justificam as diferenças encontradas em relação aos descritos na coorte aqui descrita. O presente estudo, caracteristicamente longitudinal, recrutou precocemente gestantes de risco, em média com 13 semanas gestacionais. Nestas condições foi possível avaliar comparativamente os momentos antes e após 20 semanas gestacionais.

Da mesma forma, comparando-se as dosagens realizadas na primeira e segunda metade da gravidez entre os grupos, não se constatou diferença entre os valores medianos da endoglina urinário no grupo de mulheres normotensas, comparados aos das que desenvolveram PE ($p=0,796$ e $0,803$, respectivamente). Sendo assim, as diferenças encontradas nas concentrações de endoglina ao longo da gestação por grupo de estudo, não foram significativas nem em gestantes normotensas e tampouco nas que desenvolveram PE. Mais uma vez, o significado destes achados merece ser reavaliado em outros estudos, que possam acompanhar simultaneamente tanto as concentrações sanguíneas quanto urinárias deste fator. Novamente, é possível que a função urinária alterada nas mulheres que desenvolveram PE tenha de alguma forma reduzido a excreção da endoglina, sabidamente elevado na circulação sanguínea (Venkatesha *et al.*, 2006).

A função renal nas grávidas com PE apresenta vários impedimentos anatômicos e histopatológicos. Uma importante molécula envolvida na disfunção renal descrita na PE é a própria endogлина e sua ação junto às integrinas e o TGF- β . Uma falha nestas interrelações se atribui a ocorrência de podocitúria, presente em grávidas com PE, tanto para o fim do segundo trimestre da gestação quanto no momento do parto, contribuindo para o aparecimento e gravidade da endoteliose glomerular (Buhimschi *et al.*, 2010). A perda precoce de podócitos viáveis consequente à perda de sua adesividade na membrana glomerular basal antecede a proteinúria (Craici *et al.*, 2013). A permeabilidade capilar é aumentada por ação do sEng e do sFlt1 nos pulmões, fígado e rins. Ambos induzem considerável dano vascular e interferem com a ligação de receptores da superfície celular de células endoteliais do TGF- β 1, (Venkatesha *et al.*, 2006). O estudo da podocitúria foi uma das vertentes planejadas, mas ainda não efetivadas nesta linha de pesquisa. Acredita-se que a continuidade deste estudo, com espécimes já colhidas destas mesmas mulheres, poderia ainda contribuir sobremaneira para o entendimento da função renal na PE e contribuir para uma melhor compreensão dos achados aqui discutidos.

Em relação às dosagens de creatinina urinária, inicialmente consideradas no estudo como um fator de correção da função renal para a excreção da endogлина, os achados foram surpreendentes. Seu uso em análises de biomarcadores urinários assume que a excreção urinária de creatinina seja constante entre os indivíduos e que ela seja um fator de ajuste necessário para amostras isoladas, coletadas durante o dia. Biomarcadores urinários então são frequentemente analisados em relação à concentração de creatinina para controlar as variações na taxa de fluxo urinário (Waikar *et al.*, 2010).

Neste estudo, entretanto, a relação endogлина / creatinina na urina não se mostrou útil em relação aos valores de endogлина isoladamente. Apesar de estes ajustes serem uma prática frequente, sabe-se que a normalização por creatinina pode subestimar ou superestimar a excreção do biomarcador (Waikar *et al.*, 2010). No caso de mulheres com PE com disfunção renal ela poderia teoricamente amplificar os valores reais de endogлина excretados. Também, hipoteticamente, a hiperperfusão renal característica da gestação poderia subestimar os

valores de endoglinina excretados, especialmente no grupo controle ou em mulheres com doença leve. Desta forma, até que novos parâmetros de ajuste para excreção sejam testados, podemos afirmar que a excreção urinária da endoglinina, corrigidos ou não, foram falhos em prever a PE nos casos por nós acompanhados ($p=0,850$; $p=0,854$; $p=0,077$ e $p=0,545$, Tabela 6).

Concentrações de creatinina analisadas isoladamente durante a gestação em mulheres normotensas foram constantes quando comparadas no primeiro e segundo trimestre gestacionais ($p=0,417$, Figura 11). Estes achados nos servem como parâmetro que qualifica as dosagens de creatinina pelo método cinético-colorimétrico (Analisa cat 435). Nas mulheres com PE a concentração urinária de creatinina também não mostrou mudança significativa ao longo da gestação, mas houve uma tendência a queda (79 mg/dL para 27,0 mg/dL, $p=0,062$, Figura 12). No entanto nota-se que houve uma tendência para sua redução, o que se explica pela redução progressiva da função renal ao longo da gravidez, uma vez que a doença já tem seu curso patológico mesmo antes do surgimento dos sintomas (Teixeira *et al.*, 2013).

Isto se confirma na constatação de que as gestantes que desenvolveriam PE já exibiam, na primeira metade da gestação, concentrações de creatinina urinária superiores às que permaneceriam normotensas ($p=0,001$, Figura 13). O potencial deste marcador precoce de PE se confirmou na análise logística, pois foi o único marcador, entre os estudados, com potencial de prever a doença. A cada elevação 1mg de creatinina urinária associou-se elevação de 1,5% na chance de PE (Tabela 6). As gestantes com PE em sua fase inicial experimentam uma moderada redução na filtração glomerular, o que parece ser o resultado de volume plasmático diminuído. Estas modificações associam-se a valores de creatinina no plasma mais que o dobro do esperado em uma gravidez normal. (Hayashi *et al.*, 2002). Acreditamos que esta seja uma explicação possível para o achado de redução em sua concentração urinária.

Após 20 semanas, no entanto esta diferença desapareceu nas gestantes acompanhadas. Deparamos com valores estatisticamente similares de creatinina urinária nos grupos de estudo no grupo ($p=0,816$). Gestantes com PE em sua forma mais grave apresentam uma perfusão renal e uma filtração glomerular reduzida em cerca de 25% ao contrário das mulheres normotensas que tem um aumento na filtração glomerular em torno de 50% (Barros *et al.*, 2006). Este conhecimento prévio explica de certa forma a ausência de diferenças encontradas na segunda metade da gravidez, quando as alterações sistêmicas decorrentes da PE se fazem presentes também no sistema urinário. Sendo assim, uma menor capacidade excretora no grupo com PE impediria que a creatinina, sabidamente elevada na circulação sanguínea, fosse proporcionalmente eliminada na urina.

Estudos prévios têm destacado promissores biomarcadores séricos da PE como o PIGF, VEGF, sEng e sFlit-1 (Levine *et al.*, 2004; Levine e Karumanchi, 2005; Levine *et al.*, 2006; Poon e Nicolaides, 2014). No entanto a literatura é escassa quanto aos marcadores urinários. As vantagens potenciais de um teste urinário em comparação às dosagens sanguíneas são a sua natureza verdadeiramente não-invasiva e facilidade de repetição quando necessário. As desvantagens dizem respeito às incertezas quanto à depuração renal destas substâncias e quanto às suas relações com as concentrações séricas.

Embora a concentração endoglina na urina não tenha confirmado o seu potencial de predição como o do marcador sérico, pelo menos quando obtidos em amostra aleatória única, novos estudos poderão futuramente incorporar outras rotinas de coleta urinária e quem sabe introduzir novos parâmetros de correção para amostras menores.

Destacamos que os achados deste estudo acrescentam conhecimentos novos sobre os marcadores urinários da PE e aponta a concentração de creatinina urinária, mesmo dosada em amostra aleatória, como possível preditora precoce da doença.

7. CONCLUSÃO

1. A dosagem de endoglina urinário é factível em amostra aleatória de urina de gestantes, obtida durante o período pré-natal.
2. As concentrações urinárias de endoglina em amostra aleatória de gestantes com fatores de risco para PE não se associou à doença no momento do parto, em nenhuma das fases da gestação: antes ou após 20 semanas gestacionais e sua correção pela concentração de creatinina não se mostrou útil na predição da PE.
3. A dosagem de creatinina urinária é factível em amostra aleatória de urina de gestantes, obtida durante o período pré-natal, e as concentrações urinárias de creatinina refletiram precocemente uma maior chance de desenvolvimento da PE.

REFERÊNCIAS

ACOG. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. **Obstet Gynecol**, v. 122, n. 5, p. 1122-31, Nov 2013. ISSN 0029-7844.

ASVOLD, B. O. et al. Angiogenic factors in maternal circulation and the risk of severe fetal growth restriction. **Am J Epidemiol**, v. 173, n. 6, p. 630-9, Mar 15 2011. ISSN 0002-9262. Disponível em: <<http://aje.oxfordjournals.org/content/173/6/630.full.pdf>>.

ATALLAH, A. N. Insuficiência Renal e Gestação. **Artes Médicas** v. 11, p. 389-390, 2003. Disponível em: <http://www.centrocochranedobrasil.org.br/cms/apl/artigos/artigo_499.pdf>.

BARROS, E. et al. **Nefrologia: Rotinas, Diagnósticos e Tratanebti**. 2006. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=hR0tZs_aOUgC>.

BAUMANN, M. U. et al. First-trimester serum levels of soluble endoglin and soluble fms-like tyrosine kinase-1 as first-trimester markers for late-onset preeclampsia. **Am J Obstet Gynecol**, v. 199, n. 3, p. 266.e1-6, Sep 2008. ISSN 0002-9378. Disponível em: <[http://www.ajog.org/article/S0002-9378\(08\)00701-1/pdf](http://www.ajog.org/article/S0002-9378(08)00701-1/pdf)>.

BAUMANN, M. U.; BERSINGER, N. A.; SURBEK, D. V. Serum markers for predicting pre-eclampsia. **Mol Aspects Med**, v. 28, n. 2, p. 227-44, Apr 2007. ISSN 0098-2997 (Print) 0098-2997. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S0098299707000362/1-s2.0-S0098299707000362-main.pdf?_tid=5814ac98-d4de-11e4-8c33-00000aab0f01&acdnat=1427501395_8c09fa45c965f72521554a523719d777>.

BELL, E. A bad combination: Nature Reviews Immunology **Academic OneFile**, 2004. Disponível em: <<http://go.galegroup.com/ps/i.do?id=GALE%7CA188902652&v=2.1&u=capes&it=r&p=AONE&sw=w&asid=8248645964b3b3690081bc695e0007e0>>.

BIANCO, A. T. et al. Pregnancy outcome and weight gain recommendations for the morbidly obese woman. **Obstet Gynecol**, v. 91, n. 1, p. 97-102, Jan 1998. ISSN 0029-7844 (Print) 0029-7844.

BRASIL. **Caderno de atenção Básica: Atenção ao pré-natal de baixo risco -Brasil**. Brasília: Ministerio da Saude do Brasil. 32 2012.

_____. OMS: Brasil reduz mortalidade materna em 43% de 1990 a 2013 - Brasil. Brasília, 2015a. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/saude/2014/05/oms-brasil-reduz-mortalidade-materna-em-43-de-1990-a-2013>>. Acesso em: 12/03/2015.

_____. Os Objetivos de Desenvolvimento do Milênio: Brasil. Brasília, 2015c. Disponível em: <<http://www.odmbrasil.gov.br/os-objetivos-de-desenvolvimento-do-milenio>>. Acesso em: 09/03/2015.

BUHIMSCHI, C. S. et al. The role of urinary soluble endoglin in the diagnosis of pre-eclampsia: comparison with soluble fms-like tyrosine kinase 1 to placental growth factor ratio. **Bjog**, v. 117, n. 3, p. 321-30, Feb 2010. ISSN 1470-0328. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/j.1471->

0528.2009.02434.x/asset/j.1471-0528.2009.02434.x.pdf?v=1&t=i7s9f4es&s=8472e9146418f9fb059b36d0854c07b495a76c54>.

BUJOLD, E. et al. Evidence supporting that the excess of the sVEGFR-1 concentration in maternal plasma in preeclampsia has a uterine origin. **J Matern Fetal Neonatal Med**, v. 18, n. 1, p. 9-16, Jul 2005. ISSN 1476-7058 (Print) 1476-4954. Disponível em: <<http://informahealthcare.com/doi/pdfplus/10.1080/14767050500202493>>.

CARITIS, S. et al. Predictors of pre-eclampsia in women at high risk. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. **Am J Obstet Gynecol**, v. 179, n. 4, p. 946-51, Oct 1998. ISSN 0002-9378 (Print) 0002-9378. Disponível em: <[http://www.ajog.org/article/S0002-9378\(98\)70194-2/abstract](http://www.ajog.org/article/S0002-9378(98)70194-2/abstract)>.

CETIN, I. et al. Pregenesys pre-eclampsia markers consensus meeting: What do we require from markers, risk assessment and model systems to tailor preventive strategies? **Placenta**, v. 32 Suppl, p. S4-16, Feb 2011. ISSN 0143-4004. Disponível em: <[http://www.placentajournal.org/article/S0143-4004\(10\)00500-X/abstract](http://www.placentajournal.org/article/S0143-4004(10)00500-X/abstract)>.

CHAIM, S. R. P.; OLIVEIRA, S. M. J. V.; KIMURA, A. F. Pregnancy-induced hypertension and the neonatal outcome
Hipertensión arterial en la gestación y condiciones neonatales del recién nacido
Hipertensão arterial na gestação e condições neonatais ao nascimento. **Acta paul. enferm.**, p. 53-58, 2008/0/3PY - 2008 2008. Disponível em: <[/scielo.php?script=sci_arttext&pid=&lang=pt](http://scielo.php?script=sci_arttext&pid=&lang=pt)>.

COELHO, T. M. et al. [Proteinuria in hypertensive syndrome of pregnancy: maternal and perinatal outcome]. **Rev Assoc Med Bras**, v. 50, n. 2, p. 207-13, Apr-Jun 2004. ISSN 0104-4230 (Print) 0104-4230. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302004000200040&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.

COGHILL, A. E.; HANSEN, S.; LITTMAN, A. J. Risk factors for eclampsia: a population-based study in Washington State, 1987-2007. **Am J Obstet Gynecol**, v. 205, n. 6, p. 553.e1-7, Dec 2011. ISSN 0002-9378. Disponível em: <[http://www.ajog.org/article/S0002-9378\(11\)00826-X/pdf](http://www.ajog.org/article/S0002-9378(11)00826-X/pdf)>.

CONDE-AGUDELO, A.; VILLAR, J.; LINDHEIMER, M. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. **Obstet Gynecol**, v. 104, n. 6, p. 1367-91, Dec 2004. ISSN 0029-7844 (Print) 0029-7844.

CORRÊA JÚNIOR, M. D.; AGUIAR, R. A. L. P. D.; CORRÊA, M. D. Fisiopatologia da pré-eclâmpsia: Aspectos atuais. **Femina**, v. 37, n. 5, p. 247-253, 2009. ISSN 0100-7254.

CRAICI, I. M. et al. Podocyturia predates proteinuria and clinical features of preeclampsia: longitudinal prospective study. **Hypertension**, v. 61, n. 6, p. 1289-96, Jun 2013. ISSN 0194-911x. Disponível em: <<http://hyper.ahajournals.org/content/61/6/1289.full.pdf>>.

CUNNINGHAM, F. G. et al. **Obstetrícia de Williams** :. ArtMed, 2010. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=QiGWzu3whWkC&printsec=frontcover&dq=williams+obstetricia&hl=pt-BR&sa=X&ei=wI0RVe6tNLSMsQSu_oCoDw&redir_esc=y#v=onepage&q=williams%20obstetricia&f=false>.

DEKKER, G. A.; SIBAI, B. M. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. **Am J Obstet Gynecol**, v. 179, n. 5, p. 1359-75, Nov 1998. ISSN 0002-9378 (Print) 0002-9378. Disponível em: <[http://www.ajog.org/article/S0002-9378\(98\)70160-7/abstract](http://www.ajog.org/article/S0002-9378(98)70160-7/abstract)>.

DUCKITT, K.; HARRINGTON, D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. **Bmj**, v. 330, n. 7491, p. 565, Mar 12 2005. ISSN 0959-535x. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC554027/pdf/bmj33000565.pdf>>.

DUNLOP, W. Renal physiology in pregnancy. **Postgrad Med J**, v. 55, n. 643, p. 329-32, May 1979. ISSN 0032-5473 (Print) 0032-5473. Disponível em: <<http://pmj.bmj.com/content/55/643/329.full.pdf>>.

FAYYAD, A. M.; HARRINGTON, K. F. Prediction and prevention of preeclampsia and IUGR. **Early Hum Dev**, v. 81, n. 11, p. 865-76, Nov 2005. ISSN 0378-3782 (Print) 0378-3782. Disponível em: <[http://www.earlyhumandev.com/article/S0378-3782\(05\)00189-1/abstract](http://www.earlyhumandev.com/article/S0378-3782(05)00189-1/abstract)>.

GPOWER. G*Power: Statistical Power Analyses for Windows and Mac. 2015. Disponível em: <<http://www.gpower.hhu.de/>>. Acesso em: 08/04/2015.

GRUNDMANN, M. et al. Circulating endothelial cells: a marker of vascular damage in patients with preeclampsia. **Am J Obstet Gynecol**, v. 198, n. 3, p. 317.e1-5, Mar 2008. ISSN 0002-9378. Disponível em: <[http://www.ajog.org/article/S0002-9378\(07\)01193-3/abstract](http://www.ajog.org/article/S0002-9378(07)01193-3/abstract)>.

GUZIN, K. et al. The relation of increased uterine artery blood flow resistance and impaired trophoblast invasion in pre-eclamptic pregnancies. **Arch Gynecol Obstet**, v. 272, n. 4, p. 283-8, Oct 2005. ISSN 0932-0067 (Print) 0932-0067. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00404-005-0005-2>>.

HAYASHI, M. et al. Changes in urinary excretion of six biochemical parameters in normotensive pregnancy and preeclampsia. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 39, n. 2, p. 392-400, 2002. Disponível em: <[http://www.ajkd.org/article/S0272-6386\(02\)53864-6/abstract](http://www.ajkd.org/article/S0272-6386(02)53864-6/abstract)>. Acesso em: 2015/03/29.

HERTIG, A. et al. Maternal serum sFlt1 concentration is an early and reliable predictive marker of preeclampsia. **Clin Chem**, v. 50, n. 9, p. 1702-3, Sep 2004. ISSN 0009-9147 (Print) 0009-9147. Disponível em: <<http://www.clinchem.org/content/50/9/1702.full.pdf>>.

HERTIG, A. et al. Soluble endoglin in preeclamptic patients with or without HELLP syndrome. **Am J Obstet Gynecol**, v. 202, n. 6, p. 594.e1-4, Jun 2010. ISSN 0002-9378. Disponível em: <[http://www.ajog.org/article/S0002-9378\(10\)00304-2/abstract](http://www.ajog.org/article/S0002-9378(10)00304-2/abstract)>.

HIGGINS, J. R. et al. Circulating vascular cell adhesion molecule-1 in pre-eclampsia, gestational hypertension, and normal pregnancy: evidence of selective dysregulation of vascular cell adhesion molecule-1 homeostasis in pre-eclampsia. **Am J Obstet Gynecol**, v. 179, n. 2, p. 464-9, Aug 1998. ISSN 0002-9378 (Print) 0002-9378. Disponível em: <[http://www.ajog.org/article/S0002-9378\(98\)70380-1/abstract](http://www.ajog.org/article/S0002-9378(98)70380-1/abstract)>.

HURET, J. L. Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematolog. 2015. Disponível em: <<http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/ENGID40452ch9q34.html>>.

HYTTEN, F. E. The renal excretion of nutrients in pregnancy. **Postgrad Med J**, v. 49, n. 575, p. 625-9, Sep 1973. ISSN 0032-5473 (Print) 0032-5473. Disponível em: <<http://pmj.bmj.com/content/49/575/625.full.pdf>>.

KANG, J. H. et al. Preeclampsia leads to dysregulation of various signaling pathways in placenta. **J Hypertens**, v. 29, n. 5, p. 928-36, May 2011. ISSN 0263-6352.

KAR, M. Role of biomarkers in early detection of preeclampsia. **J Clin Diagn Res**, v. 8, n. 4, p. Be01-4, Apr 2014. ISSN 2249-782X (Print) 0973-709x. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4064886/pdf/jcdr-8-BE01.pdf>>.

KARUMANCHI, S. A. et al. Preeclampsia: a renal perspective. **Kidney Int**, v. 67, n. 6, p. 2101-13, Jun 2005. ISSN 0085-2538 (Print) 0085-2538. Disponível em: <<http://www.nature.com/ki/journal/v67/n6/pdf/4495287a.pdf>>.

LAFAYETTE, R. A. et al. Nature of glomerular dysfunction in pre-eclampsia. **Kidney Int**, v. 54, n. 4, p. 1240-9, Oct 1998. ISSN 0085-2538 (Print) 0085-2538. Disponível em: <<http://www.nature.com/ki/journal/v54/n4/pdf/4490357a.pdf>>.

LASKOWSKA, M.; LASKOWSKA, K.; OLESZCZUK, J. Endoglin in pregnancy complicated by fetal intrauterine growth restriction in normotensive and preeclamptic pregnant women: a comparison between preeclamptic patients with appropriate-for-gestational-age weight infants and healthy pregnant women. **J Matern Fetal Neonatal Med**, v. 25, n. 6, p. 806-11, Jun 2012. ISSN 1476-4954. Disponível em: <<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/14767058.2011.595852>>.

LEVINE, R. J.; KARUMANCHI, S. A. Circulating angiogenic factors in preeclampsia. **Clin Obstet Gynecol**, v. 48, n. 2, p. 372-86, Jun 2005. ISSN 0009-9201 (Print) 0009-9201.

LEVINE, R. J. et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. **N Engl J Med**, v. 355, n. 10, p. 992-1005, Sep 7 2006. ISSN 0028-4793. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa055352>>.

LEVINE, R. J. et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. **N Engl J Med**, v. 350, n. 7, p. 672-83, Feb 12 2004. ISSN 0028-4793. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa031884>>.

LEVINE, R. J. et al. Urinary placental growth factor and risk of preeclampsia. **Jama**, v. 293, n. 1, p. 77-85, Jan 5 2005. ISSN 0098-7484. Disponível em: <<http://jama.jamanetwork.com/data/Journals/JAMA/4958/JOC41425.pdf>>.

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**, v. 111, n. 5, p. 649-58, Mar 2003. ISSN 0021-9738 (Print) 0021-9738. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC151901/pdf/JCI0317189.pdf>>.

MEDQUEST. MedQuest: Aplicativo para criar formulários eletrônicos para coleta de dados na área da saúde. 2015. Disponível em: <site.medicina.ufmg.br/cins/apoio-a-pesquisa-22/>.

MILLMAN, A. L. et al. Oxygen saturation as a predictor of adverse maternal outcomes in women with preeclampsia. **J Obstet Gynaecol Can**, v. 33, n. 7, p. 705-14, Jul 2011. ISSN 1701-2163 (Print) 1701-2163.

MORRIS, R. K. et al. Acurácia diagnóstica da proteinúria em fita e da relação albumina-creatinina (RAC) na detecção de proteinúria significativa ou desfecho gestacional adverso em pacientes com suspeita de pré-eclâmpsia. 2012. Disponível em: <<http://www.bibliomed.com.br/litmed/showdoc.cfm?bookid=128&bookcatid=55&bookchptrid=13846>>.

MULLER-DEILE, J.; SCHIFFER, M. Preeclampsia from a renal point of view: Insides into disease models, biomarkers and therapy. **World J Nephrol**, v. 3, n. 4, p. 169-81, Nov 6 2014. ISSN 2220-6124. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4220349/pdf/WJN-3-169.pdf>>.

NALJAYAN, M. V.; KARUMANCHI, S. A. New developments in the pathogenesis of preeclampsia. **Adv Chronic Kidney Dis**, v. 20, n. 3, p. 265-70, May 2013. ISSN 1548-5595. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4107338/pdf/nihms-607683.pdf>>.

NAVARRO ECHEVARRÍA, L. Cribado precoz bioquímico y ecográfico de la preeclampsia y de otras complicaciones gestacionales. 2010. ISSN 8469323954.

NUNES, G. L. S. Avaliação da função renal em pacientes hipertensos. **Rev Bras Hipertens** v. 14, n. 3, p. 162-166, 2007.

OUJO, B. et al. L-Endoglin overexpression increases renal fibrosis after unilateral ureteral obstruction. **PLoS One**, v. 9, n. 10, p. e110365, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4196986/pdf/pone.0110365.pdf>>.

PARK, J. H. et al. Random urine protein/creatinine ratio readily predicts proteinuria in preeclampsia. **Obstet Gynecol Sci**, v. 56, n. 1, p. 8-14, Jan 2013. ISSN 2287-8572 (Print) 2287-8572. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3784101/pdf/ogs-56-8.pdf>>.

POLLIOTTI, B. M. et al. Second-trimester maternal serum placental growth factor and vascular endothelial growth factor for predicting severe, early-onset preeclampsia. **Obstet Gynecol**, v. 101, n. 6, p. 1266-74, Jun 2003. ISSN 0029-7844 (Print) 0029-7844. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S0029784403003387/1-s2.0-S0029784403003387-main.pdf?_tid=5c1b0ffc-d4df-11e4-b250-00000aab0f02&acdnat=1427501831_e3f3dcb57021cdc03881c6e3c922ab14>.

POLSANI, S.; PHIPPS, E.; JIM, B. Emerging new biomarkers of preeclampsia. **Adv Chronic Kidney Dis**, v. 20, n. 3, p. 271-9, May 2013. ISSN 1548-5595. Disponível em: <[http://www.ackdjournal.org/article/S1548-5595\(13\)00002-5/abstract](http://www.ackdjournal.org/article/S1548-5595(13)00002-5/abstract)>.

POON, L. C.; NICOLAIDES, K. H. First-trimester maternal factors and biomarker screening for preeclampsia. **Prenat Diagn**, v. 34, n. 7, p. 618-27, Jul 2014. ISSN 0197-3851. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pd.4397/abstract>>.

RASMUSSEN, P. E.; NIELSEN, F. R. Hydronephrosis during pregnancy: a literature survey. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, v. 27, n. 3, p. 249-59, Mar 1988. ISSN 0301-2115 (Print) 0301-2115. Disponível em: <[http://www.ejog.org/article/0028-2243\(88\)90130-X/pdf](http://www.ejog.org/article/0028-2243(88)90130-X/pdf)>.

REIS, Z. S. et al. [Early-onset preeclampsia: is it a better classification for maternal and perinatal outcomes?]. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 32, n. 12, p. 584-90, Dec 2010. ISSN 0100-7203. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032010001200004&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.

REIS, Z. S. N. et al. Pressão arterial e concentração plasmática do peptídeo atrial natriurético e do peptídeo natriurético tipo B, em gestações complicadas pela pré-eclâmpsia. **RBGO**, v. 25, n. 6, p. 413-418, 2003.

ROBERTS, J. M.; LAIN, K. Y. Recent Insights into the pathogenesis of pre-eclampsia. **Placenta**, v. 23, n. 5, p. 359-72, May 2002. ISSN 0143-4004 (Print) 0143-4004. Disponível em: <[http://www.placentajournal.org/article/S0143-4004\(02\)90819-2/abstract](http://www.placentajournal.org/article/S0143-4004(02)90819-2/abstract)>.

ROBINSON, C. J.; JOHNSON, D. D. Soluble endoglin as a second-trimester marker for preeclampsia. **Am J Obstet Gynecol**, v. 197, n. 2, p. 174.e1-5, Aug 2007. ISSN 0002-9378. Disponível em: <[http://www.ajog.org/article/S0002-9378\(07\)00424-3/abstract](http://www.ajog.org/article/S0002-9378(07)00424-3/abstract)>.

ROMERO, R. et al. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. **J Matern Fetal Neonatal Med**, v. 21, n. 1, p. 9-23, Jan 2008. ISSN 1476-7058 (Print) 1476-4954. Disponível em: <<http://informahealthcare.com/doi/pdfplus/10.1080/14767050701830480>>.

SCHIFFER, M. et al. Apoptosis in podocytes induced by TGF-beta and Smad7. **J Clin Invest**, v. 108, n. 6, p. 807-16, Sep 2001. ISSN 0021-9738 (Print) 0021-9738. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC200928/pdf/JCI0112367.pdf>>.

SCHMITZ, P. G. **Rins: Uma abordagem integrada à doença**. New York: Artmed, 2012. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=DQrLnKKxG9QC&dq=SCHMITZ,+P.+G.+Rins.&hl=pt-BR&source=gbs_navlinks_s>.

SEBIRE, N. J. et al. Maternal obesity and pregnancy outcome: a study of 287,213 pregnancies in London. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 25, n. 8, p. 1175-82, Aug 2001. Disponível em: <<http://www.nature.com/ijo/journal/v25/n8/pdf/0801670a.pdf>>.

SIBAI, B.; DEKKER, G.; KUPFERMINC, M. Pre-eclampsia. **Lancet**, v. 365, n. 9461, p. 785-99, Feb 26-Mar 4 2005. ISSN 0140-6736. Disponível em: <[http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(05\)17987-2/abstract](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(05)17987-2/abstract)>.

SILVA, R. F. N.; ABBADE, J. F.; PERAÇOLI, J. C. Significado da presença de esquizócitos no sangue periférico de gestantes com pré-eclâmpsia. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 30, n. 8, p. 406-12, 2008.

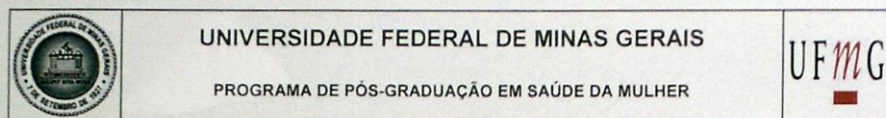
TEIXEIRA, P. G. et al. Presymptomatic prediction of preeclampsia with angiogenic factors, in high risk pregnant women. **Hypertens Pregnancy**, v. 32, n. 3, p. 312-20, Aug 2013. ISSN 1064-1955. Disponível em: <<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/10641955.2013.807818>>.

VENKATESHA, S. et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. **Nat Med**, v. 12, n. 6, p. 642-9, Jun 2006. ISSN 1078-8956 (Print) 1078-8956.

WAIKAR, S. S.; SABBISSETTI, V. A. S.; BONVENTRE, J. V. Normalization of urinary biomarkers to creatinine during changes in glomerular filtration rate. **Kidney Int**, v. 78, n. 5, p. 486-494, 09//print 2010. ISSN 0085-2538. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/ki.2010.165>>.

ANEXOS«

Anexo 1: Ata da Defesa



ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA LUCIA APARECIDA CAMPOS COSTA

Realizou-se, no dia 08 de maio de 2015, às 14:30 horas, Faculdade de Medicina, sala 062, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada *Estudo longitudinal da dosagem urinária do endoglin e da creatinina como preditor da preeclâmpsia*, apresentada por LUCIA APARECIDA CAMPOS COSTA, número de registro 2013652741, graduada no curso de BIOMEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em SAÚDE DA MULHER, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Zilma Silveira Nogueira Reis - Orientador (UFMG), Prof(a). Andre Luiz Barbosa Roquette (UFMG), Prof(a). Mario Dias Correia Junior (UFMG), Prof(a). Paula Peixoto Campos Lopes (UFMG).

A Comissão considerou a dissertação:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 08 de maio de 2015.

Prof(a). Zilma Silveira Nogueira Reis (Doutora)

Prof. Andre Luiz Barbosa Roquette (Doutor)

Prof. Mario Dias Correia Junior (Doutor)

Prof(a). Paula Peixoto Campos Lopes (Doutora)

Anexo 2: Folha de aprovação

	<p>UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS</p> <p>PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER</p>	
---	--	---

FOLHA DE APROVAÇÃO

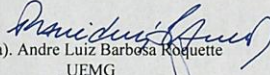
Estudo longitudinal da dosagem urinária do endoglin e da creatinina como preditor da preeclâmpsia

LUCIA APARECIDA CAMPOS COSTA

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em SAÚDE DA MULHER, como requisito para obtenção do grau de Mestre em SAÚDE DA MULHER, área de concentração PERINATOLOGIA.

Aprovada em 08 de maio de 2015, pela banca constituída pelos membros:


Prof(a). Zilma Silveira Nogueira Reis - Orientador
UFMG


Prof(a). Andre Luiz Barbosa Roquette
UFMG


Prof(a). Mario Dias Correia Junior
UFMG


Prof(a). Paula Peixoto Campos Lopes
UFMG

Belo Horizonte, 8 de maio de 2015.

Anexo 3: Parecer de aprovação do COEP



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Parecer nº. ETIC 462 /08

**Interessado(a): Prof. Antonio Carlos Vieira Cabral
Depto. de Ginecologia e Obstetrícia
Faculdade de Medicina - UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 28 de outubro de 2008, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "**Perfil do marcadores de angiogênese no plasma e urina de gestante com pré-eclâmpsia e gestante normotensas**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

**Prof. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG**

Anexo 4: Termo de consentimento Livre e Esclarecimento

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Perfil dos marcadores de angiogênese no plasma e urina de gestantes com pré-eclâmpsia e gestantes normotensas.

- 1- Você está sendo convidada a participar deste estudo por fazer o seu acompanhamento e parto no Hospital das Clínicas. O nosso objetivo é estudar uma doença chamada pré-eclâmpsia, que ocorre em mulheres grávidas.
- 2- A pré-eclâmpsia é uma doença grave na gestação, na qual 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 apenas em algumas gestantes.
- 3- Recentemente, algumas substâncias produzidas na placenta e que estão presentes no sangue e na urina de mulheres grávidas têm sido estudadas, e parecem estar alteradas nas gestantes que desenvolvem pressão alta.
- 4- Acreditamos que esta pesquisa possa esclarecer o comportamento dessas substâncias no sangue e na urina das gestantes com pré-eclâmpsia. Acreditamos também na possibilidade do uso dessas substâncias, isoladas ou associadas (sangue e/ou urina), para detectar a doença e correlacioná-las com sua gravidade.
- 5- Para que essa pesquisa se realize, é necessária a coleta de 10 ml (um pouco mais de uma colher de sopa) de sangue da veia de seu braço e 10ml de urina. Esses procedimentos seguirão normas rígidas de anti-sepsia e não apresentarão nenhum risco adicional para você ou seu filho.
- 6- Os resultados desses exames serão comparados com gestantes sem pré-eclâmpsia e utilizados apenas para estudo.
- 7- A punção da veia do seu braço, para colher o sangue, pode provocar dor de leve intensidade e, às vezes, levar à formação de um hematoma (coloração arroxeadada) no local e muito raramente vermelhidão. A coleta de urina não oferece riscos.
- 8- Esses exames não fazem parte da rotina de internação ou parto no Hospital das Clínicas e você deve estar consciente de que a coleta da urina está sendo realizada apenas para pesquisa. No momento da internação é colhido sangue para fazer o VDRL. Iremos aproveitar este momento para retirar o sangue para este estudo.



- 9- Caso não concorde em participar deste estudo ou mesmo queira sair do acompanhamento a qualquer momento, não haverá alteração do seu acompanhamento durante o pré-natal ou o parto no Hospital das Clínicas.
- 10- Caso seja de seu interesse, os resultados ficarão guardados com o pesquisador e lhe serão entregues assim que você solicitar. Em caso de novos estudos no futuro você será procurada para autorizar ou não a utilização destes resultados.
- 11- Eu
portadora do documento de identidade.....
expedido pela....., estou ciente do que foi exposto acima e autorizo a coleta de amostra do meu sangue e urina 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 ____/____/____

Telefone de contato:

Maternidade Hospital das Clínicas da UFMG - 34099421

Cristina Márcia Nogueira Salomão - 34099421

Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - (31) 34094592

Av. Antônio Carlos 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, sala 2005 –
Campus da Pampulha.

Belo Horizonte – Minas Gerais – CEP: 31270 -901

