

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

A ATIVINA A EM PRIMIGESTAS E MULTIGESTAS:
Dosagem sérica e urinária em estudo prospectivo transversal

BRUNA BARBOSA COIMBRA CORLAITE

BELO HORIZONTE

2022

BRUNA BARBOSA COIMBRA CORLAITE

**A ATIVINA A EM PRIMIGESTAS E MULTIGESTAS:
Dosagem sérica e urinária em estudo prospectivo transversal**

Dissertação, como requisito parcial, para obtenção de título de mestre em Saúde da Mulher, submetida ao Programa de Pós Graduação em Saúde da Mulher da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

Orientador: Prof. Dr. Fernando Marcos dos Reis

BELO HORIZONTE

2022

Corlaite, Bruna Barbosa Coimbra.
C799a A Ativina A em Primigestas e Multigestas [recursos eletrônicos]: dosagem sérica e urinária em estudo prospectivo transversal. / Bruna Barbosa Coimbra Corlaite. - - Belo Horizonte: 2022.
62f.: il.
Formato: PDF.
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Fernando Marcos dos Reis.
Área de concentração: Saúde da Mulher.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Receptores de Ativinas. 2. Gravidez. 3. Urinálise. 4. Biomarcadores.
5. Dissertação Acadêmica. I. Reis, Fernando Marcos dos. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título.

NLM: WK 515



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO**EM SAÚDE DA MULHER**

ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA

ALUNA/ BRUNA BARBOSA COIMBRA

Realizou-se, no dia 31 de março de 2022, às 18:30 horas, online - Google Meet, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada *A ATIVINA A EM PRIMIGESTAS E MULTIGESTAS*:

Dosagem sérica e urinária em estudo prospectivo transversal, apresentada por BRUNA BARBOSA COIMBRA, número de registro 2019660169, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em SAÚDE DA MULHER, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Fernando Marcos dos Reis - Orientador (UFMG), Prof(a). Juliana Silva Barra (UFMG), Prof(a). Jacqueline Braga Pereira (UFMG).

A Comissão considerou a dissertação:

(X) Aprovada

() Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavramos a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada eletronicamente e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 31 de março de 2022.

Prof(a). Fernando Marcos dos Reis (Doutor)

Prof(a). Juliana Silva Barra (Doutor)

Prof(a). Jacqueline Braga Pereira (Doutora)



Documento assinado eletronicamente por **Fernando Marcos dos Reis, Professor do Magistério Superior**, em 18/07/2022, às 16:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Juliana Silva Barra, Professora do Magistério Superior**, em 18/07/2022, às 16:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jacqueline Braga Pereira, Professora do Magistério Superior**, em 19/07/2022, às 11:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1613822** e o código CRC **C8D63486**.

Dedico esse momento da minha caminhada a todos os envolvidos na minha formação pessoal e profissional, em especial ao Prof Fernando Reis, sem o qual esse projeto nunca teria saído do papel. Se não fosse seu cuidado, zelo, afeto e dedicação, não só à ciência, mas também a mim e a minha trajetória com todas as pedras no meio do caminho, eu não estaria aqui hoje, teria deixado apenas as pegadas no meio da estrada. A ele não tenho como ser mais grata.

Aos meus colegas que tanto me apoiaram, participaram e estiveram presentes, seja neste projeto ou em minha formação, meus mais sinceros agradecimentos: dentre eles menciono Maíra Casalechi, Ines Katerina, Francisco de Assis, Wiviane Assis e Rosilene. Aqui, deixo meu carinho a toda equipe passada, presente e futura do Laboratório de Reprodução Humana do HC-UFMG. Ao eterno Prof. Aroldo Camargos pela concretização do sonho e todo seu empenho no aprimoramento da nossa segunda casa.

À minha família, desde meus pais e padrasto até meu marido e nosso pequeno, passando pelas minhas irmãs, agradeço por estarem sempre ao meu lado e serem as fontes de alegria, aconchego, paz e refúgio em qualquer situação, em todos os momentos.

*Há ciência naquilo que fazemos, mas também há
hábito, intuição e, às vezes, a simples adivinhação.
A lacuna entre o que sabemos e o que buscamos
persiste. E essa lacuna complica tudo o que
fazemos.*
Atul Gawande

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi investigar os níveis séricos e urinários de ativina A em diferentes momentos da gestação, em primigestas e multigestas, para entender se essas variáveis (amostra biológica e primeira gestação) afetam a ativina A como biomarcador na gravidez. Prospectivamente, incluímos 43 pares de amostras de soro e urina de 25 mulheres examinadas em diferentes idades gestacionais (variação de 45 a 268 dias). No grupo de primigestas (n = 16 amostras de 9 participantes), não houve alteração significativa nos níveis de ativina A sérica durante a gestação. Por outro lado, o grupo de multigestas (n = 27 amostras de 16 mulheres) apresentou níveis séricos de ativina A mais elevados no terceiro trimestre (2676 ± 840 pg / ml) em comparação com o primeiro (583 ± 408 pg / ml) e o segundo (1040 ± 384) trimestres ($p = 0,025$). As concentrações de ativina A na urina não diferiram entre os dois grupos e não mudaram de acordo com a fase de gestação. Não houve correlação entre os níveis séricos e urinários de ativina A ($r = 0,149$, $p = 0,359$). Esses dados sugerem que a secreção de ativina A pode variar menos durante a primeira gravidez, enquanto a ativina A na urina provavelmente não corresponde aos os níveis sistêmicos desse hormônio em mulheres grávidas.

Palavras-Chave: Ativina A; idade gestacional; gestação; primigesta; urinálise

ABSTRACT

The aim of the present study was to investigate serum and urine levels of activin A in different moments of gestation, in primigravidae and in multigravidae, to understand whether these variables (biological sample and first gestation) affect activin A as a biomarker in pregnancy. We prospectively included 43 pairs of serum and urine samples from 25 women examined at different gestational ages (range 45 to 268 days). In the group of primigravidae (n = 16 samples from 9 participants), there was no significant change in serum activin A levels across gestation. Conversely, the group of multigravidae (n = 27 samples from 16 women) had higher serum activin A levels in the third trimester (2676 ± 840 pg/ml) compared to the first (583 ± 408 pg/ml) and second (1040 ± 384) trimestres ($p = .025$). Urine activin A concentrations did not differ between the two groups and did not change according to the gestation phase. There was no correlation between serum and urinary levels of activin A ($r = 0.149$, $p = .359$). These data suggest that activin A secretion may vary less during the first pregnancy, while urine activin A is unlikely to be a surrogate for the systemic levels of this hormone in pregnant women.

Keywords: *Activin A; gestational age; pregnancy; primigravida; urine*

SUMÁRIO:

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Ativina A	14
2.1.1 Histórico.....	14
2.1.2 Estrutura molecular	14
2.1.3 Funções	15
2.2 A fisiologia do desenvolvimento placentário	16
2.2.1 O papel da ativina A no endométrio e na formação placentária.....	20
2.3 Doenças gestacionais e mau funcionamento placentário	22
2.3.1 O comportamento da ativina A nas doenças gestacionais.....	24
2.3.2 A paridade e sua relação com as doenças gestacionais	26
2.4 Biomarcadores.....	28
2.4.1 Ativina A e biomarcadores laboratoriais de desfechos gestacionais.....	30
3. OBJETIVOS.....	32
3.1 Geral.....	32
3.2 Específicos.....	32
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1 Modelo de estudo	33
4.2 Ética	33
4.3 Participantes.....	33
4.4 Coleta das amostras.....	35
4.5 Análise de ativina A	35
4.6 Análise estatística	37
5. RESULTADOS	38
6. DISCUSSÃO	42
7. CONCLUSÕES.....	45
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
9. ANEXOS.....	61
9.1 ANEXO 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	61
9.2 ANEXO 2 – Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)	62

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Caderneta da Gestante	34
Figura 2: Ativina A sérica vs. idade gestacional	39
Figura 3: Ativina A sérica em primigestas e multigestas vs. trimestre gestacional	39
Figura 4: Ativina A sérica e sua excreção urinária	40
Figura 5: Concentrações urinárias de ativina A em relação à idade gestacional	41
Figura 6: Ativina A urinária em primigestas e multigestas nos diferentes estágios da gestação	41
Tabela 1: Características clínicas das participantes do estudo	36

1. INTRODUÇÃO

A ativina A é uma molécula bioativa produzida pela placenta e abundantemente secretada na circulação materna durante a gestação (Bloise et al, 2019). É formada por duas subunidades idênticas de uma glicoproteína codificada pelo gene INHBA e sinalizada por receptores transmembrana que agem por meio de fosforilação citoplasmática de proteínas (Bayne et al, 2009). Os níveis séricos desse hormônio podem ser até dez vezes maiores na grávida em comparação com não gestantes (Adu Gyamfi et al, 2019; Bloise et al, 2019). Trata-se de um regulador obrigatório de vários processos reprodutivos, incluindo proliferação, diferenciação e invasividade trofoblástica no desenvolvimento placentário (Adu Gyamfi et al, 2020; Zhu et al, 2020). Sendo molécula imprescindível para a adequada regulação do desenvolvimento trofoblástico e para o estabelecimento da função placentária, a ativina A torna-se um potencial biomarcador para resultados gestacionais.

A utilização da ativina A como marcador bioquímico de complicações gestacionais baseia-se na observação de que seus níveis séricos estão alterados em síndromes associadas a mau desempenho placentário, como a pré-eclâmpsia e o crescimento intrauterino restrito (Adu Gyamfi et al, 2019; Bloise et al, 2019). O hormônio em questão já foi amplamente estudado e validado como biomarcador de resultados gestacionais quando se considera sua dosagem sérica (Adu Gyamfi et al, 2019; Bloise et al, 2019). Contudo, apesar de previamente validada a correlação entre os níveis séricos alterados de ativina A e o complicações gestacionais, até o momento desconhecemos estudos que tenham correlacionado tais desfechos a seus níveis urinários na gestação.

Diversos hormônios proteicos placentários já foram detectados na urina materna por atravessarem a barreira placentária (Guo et al, 2019; Lecarpentier et al, 2019; Zen et al, 2020). A dosagem urinária da ativina A, caso bem estabelecida como biomarcador de resultados, poderia tornar-se uma ferramenta bastante útil no acompanhamento longitudinal de pacientes de alto risco para complicações gestacionais (Lecarpentier et al, 2019; Zen et al, 2020). A facilidade na obtenção de amostras, a coleta não invasiva e o possível menor custo de sua análise poderiam ser fatores de interesse no estímulo aos estudos para sua validação. Por essa razão, esse estudo se propôs a avaliar a ativina A como biomarcador de resultados gestacionais

não apenas no que se refere a seus níveis séricos, mas também urinários, em diversas idades gestacionais e paridades.

O risco de desenvolver doenças relacionadas ao mau funcionamento placentário, tais como pré-eclâmpsia e crescimento intrauterino restrito, é sabidamente maior nas primigestas do que nas multigestas (Kiple, 2003; Brosens et al, 2011; Shah et al, 2010). Apesar da relação entre paridade e doenças placentárias ser evidência antiga, o motivo pelo qual as complicações ocorrem mais frequentemente nas primigestas ainda não está exatamente estabelecido. Estudos recentes têm sugerido o papel da epigenética envolvida no aprimoramento das células natural killers decíduais do leito placentário (Goldman-Wohl et al, 2019). Por outro lado, evidências mais antigas indicam a modulação imunológica da ativina A na gravidez inicial por indução de tolerância na interface materno-fetal (Bearfield et al, 2005; Cuello et al, 2020; Rosenberg et al, 2012). Nesse sentido, as complicações gestacionais seriam menores nas múltiparas devido ao aperfeiçoamento da resposta inflamatória placentária, com regulação mais precisa de seus mecanismos de controle (Sugimoto et al, 2019; Brosens et al, 2011; Goldman-Wohl et al, 2019).

Por essas razões, este estudo se propôs a avaliar a ativina A não apenas no que se refere a seis níveis séricos, mas também urinários, em diversas idades gestacionais e paridades, com o intuito de compreender melhor se essas variáveis (tipo de amostra biológica e paridade) poderiam afetar nosso biomarcador e a interpretação de resultados.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ativina A

2.1.1 Histórico

A ativina A foi descoberta em 1986 por Wylie Vale, seguindo uma trajetória oposta à da descoberta da inibina (Bloise et al, 2019). Enquanto a inibina foi nomeada como um suposto fator testicular capaz de inibir seletivamente a liberação de hormônio folículo estimulante (FSH) e somente décadas depois foi isolada e purificada a partir do ovário de porcas, as ativinas foram primeiro isoladas em laboratório e só depois tiveram sua relevância fisiológica investigada e revelada. A ativina A foi primeiramente isolada e caracterizada como molécula recombinante formada a partir de duas subunidades da inibina, recebendo o nome de ativina devido ao seu efeito estimulador sobre a secreção hipofisária de FSH (Adu-Gyamfi et al, 2020; Bloise et al, 2019). Ao longo dos pouco mais de 30 anos de sua identificação, a ativina A tem se mostrado uma molécula muito mais interessante do que previamente imaginado. Sabe-se atualmente que a ativina A é amplamente expressa não só no sistema reprodutor, mas também encontrada nos mais diversos tecidos humanos, tais como fígado, pulmão, osso, cérebro e intestino. (Bloise et al, 2019).

2.1.2 Estrutura molecular

As ativinas são dímeros glicoproteicos compostos por 2 das 5 subunidades de inibina existentes, as quais estão interligadas por uma ponte dissulfeto (Bloise et al, 2019). Fazem parte da superfamília do fator de crescimento transformador β (TGF- β) e são formadas a partir da ação de proteases sobre um polipeptídeo precursor contendo uma unidade NH₂ terminal com 250-350 resíduos e um domínio maduro COOH terminal (Luisi et al, 2001; Bloise et al 2019). Cada ativina recebe seu nome a partir das subunidades de inibina que a compõem, sendo, portanto, nomeado ativina A o dímero glicoproteico formado por 2 subunidades β A de inibina (Bayne et al, 2009; Bloise et al, 2019).

A ativina A é codificada pelo gene INHBA e sinalizada através de dois receptores transmembrana: tipo 2, de alto peso molecular e identificado em 2 formas (ActRIIA e ActRIIB), e tipo 1, de baixo peso molecular com 7 variantes (sendo o

receptor ALK4 predominante, também nomeado ActRIB) (Bloise et al, 2019; Adu-Gyamfi et al, 2020). A atuação da ativina A por meio desses receptores, pertencentes à família serina treonina quinase, se dá através de ativação de proteínas intracelulares (SMADs) que desencadeiam uma cascata de reações até culminarem no efeito principal (Wijayarathna et al, 2016; Bayne et al, 2009).

O gene INHBA e os receptores de ativina A foram observados em uma ampla gama de mamíferos, desde ratos até humanos, preservando até 99% da sequência de aminoácidos encontrada entre espécies. Esse fato é compatível com as múltiplas e essenciais funções da ativina A identificadas até o momento nas diversas fases do desenvolvimento animal (Bloise et al, 2019).

2.1.3 Funções

A ativina A foi originalmente associada ao sistema reprodutor. Isolada como uma proteína gonadal com ação sobre o eixo hipotálamo-hipófise-ovários (H-H-O), teve sua primeira função identificada como estimulador da liberação de FSH pela hipófise (Wijayarathna et al, 2016; Adu-Gyamfi et al, 2020). Contudo, apesar de provado seu papel sobre o estímulo da liberação de FSH, permanece incerto se a ativina A atua por mecanismo de feedback positivo a partir da produção gonádica e liberação hormonal na circulação, pois estudos prévios falharam em demonstrar alteração nos níveis séricos de ativina A de acordo com a atividade gonadal e se mostraram fracos para a correlação. É possível que as gônadas não sejam a maior fonte de ativina A e que sua ação sobre o eixo H-H-O ocorra por ação parácrina ou autócrina (Bloise et al, 2019).

Inúmeras outras prováveis associações funcionais da ativina A, com ação parácrina e autócrina, foram posteriormente descritas, dentre elas: diferenciação celular, remodelamento de tecidos, proteção contra danos celulares causados por hipóxia, invasão trofoblástica da gestação inicial e regulação de processos inflamatórios (Florio et al, 2001; Borges et al, 2015)

Dentre as diversas possíveis funções da ativina A caracterizadas até o momento, o sistema reprodutor concentra significativa parcela da atividade dessa molécula, com participação na foliculogênese, crescimento folicular, manutenção e regressão do corpo lúteo, decidualização, reparo endometrial após a descamação

menstrual, modulação vascular e adaptação placentária, dentre outros (Wijayarathna et al, 2016; Adu-Gyamfi et al, 2020).

A atuação da ativina A, porém, não se resume ao sistema reprodutor. No cérebro, sua participação está associada aos processos de proteção neuronal à hipóxia por diminuir a apoptose de neurônios em situações de insulto hipoxico-isquêmico (inclusive no período perinatal), induzir a neurogênese após degeneração celular, realizar modulação dendrítica e controlar a atividade inflamatória (Kupershimdt et al, 2007; Mukerji et al, 2009; Xu et al, 2013; Abdipranoto-Cowley et al, 2009). No sistema cardiovascular, a ativina A atua no modelamento e remodelamento cardíaco, promove miogênese e diferenciação dos cardiomiócitos, estabelece o posicionamento cardíaco durante a embriogênese, induz assimetria lateral e participa da diferenciação vascular arterial e venosa (Mangiacapra et al, 1995; Oh SP, Li E, 1997; Urness et al, 2000). Com relação ao desenvolvimento da estrutura funcional renal sugere-se que a ativina A é capaz de limitar o número de néfrons e o crescimento glomerular (Maeshima et al, 2000). A ativina A presente nos pulmões tem ainda papel na regulação e reparação morfogênica pulmonar induzindo cicatrização por fibrose em resposta ao trauma e interferindo, possivelmente, na amplitude das ramificações de bronquíolos e na produção de surfactante (Zhao et al, 1998; Apostolou et al, 2012; Mayer et al, 2012). Por sua vez, no trato gastrointestinal, algumas das funções da ativina A são: o controle do crescimento e diferenciação de suas diferentes regiões, a proliferação de células β pancreáticas e liberação de insulina, o reparo do tecido após lesão com fibrose e regeneração de hepatócitos, além de estabelecer possível controle sobre o metabolismo lipídico (Fukamachi et al, 2013; Totsuka et al, 1988; Patella et al, 2006). Por fim, no sistema musculoesquelético, a ativina A possui atuação sobre o controle do fuso mitótico (regulando a proliferação e diferenciação de miócitos), sobre o controle funcional de contratilidade, força e fosforilação oxidativa mitocondrial, sobre a modelação/remodelação óssea (de forma complexa em atuação conjunta e intrincada a outras proteínas da família do TGF- β) e com ação inflamatória articular sinovial (Chen et al, 2017; Yaden et al, 2014; Relizani et al, 2014; Langdahl et al, 2016; Hadjidakis et al, 2006).

2.2 A fisiologia do desenvolvimento placentário

Aproximadamente 30 horas a partir da fecundação do óvulo pelo espermatozóide nas tubas uterinas, o zigoto inicia uma rápida sequência de divisão celular rumo à formação da mórula, ainda em seu trajeto até a cavidade uterina. Nesse ponto do desenvolvimento embrionário, 12 a 32 blastômeros estão presentes formando uma massa compacta de células que chega ao útero após 3 dias da fecundação. Inicia-se, então, a formação do blastocisto, ocorrendo absorção de líquido através da zona pelúcida até o interior da massa celular previamente existente e originando uma cavidade interna que dividirá os blastômeros em camadas interna e externa. As células internas da blástula comporão o embrioblasto e darão origem ao embrião, enquanto as células externas do blastocisto serão chamadas trofoblasto e formarão a parte embrionária da placenta (Moore et al, 2016).

Por aproximadamente 2 dias, o blastocisto em desenvolvimento flutua na cavidade endometrial obtendo nutrição por meio da secreção glandular local. Na sequência, por volta de 6 dias após a fecundação, a parede do blastocisto adere ao epitélio endometrial por meio de rápida proliferação trofoblástica e posterior diferenciação em duas camadas: o citotrofoblasto, camada celular interna e mitoticamente ativa, e o sinciciotrofoblasto, massa multinucleada sem limites celulares identificáveis. A partir desse ponto, prolongamentos digitiformes do sinciciotrofoblasto invadem o tecido conjuntivo iniciando a fixação endometrial mais profunda, o que geralmente se dá num ponto do trofoblasto próximo ao posicionamento do embrioblasto. O sinciciotrofoblasto, altamente invasivo, produz enzimas que degeneram os tecidos maternos no seu entorno, deslocando as células endometriais (as quais sofrem apoptose) e aproveitando células decíduais como fonte de nutrientes para o embrião (Moore et al, 2016).

Por sua vez, o citotrofoblasto é responsável por alimentar a massa crescente do sinciciotrofoblasto através de divisões mitóticas, com formação de novas células que se fundem e perdem seus limites celulares enquanto integram o blastocisto ao endométrio materno. A massa sinciciotrofoblástica, posteriormente, apresentará lacunas preenchidas por sangue materno advindo da rotura de capilares endometriais e erosão glandular, representando a circulação uteroplacentária primitiva, local onde ocorrerá a oxigenação do embrião e sua nutrição inicial. A rede lacunar formada pela fusão de lacunas dá o aspecto esponjoso do sinciciotrofoblasto e representa o futuro espaço interviloso placentário. Os capilares maternos ao redor da implantação blastocística, no tecido conjuntivo, se tornam congestionados, dilatados, tortuosos e

apresentam paredes mais finas que o habitual, sendo denominados sinusóides (Moore et al, 2016).

Simultaneamente às mudanças ocorridas no trofoblasto, o embrioblasto também passa por significativas alterações com o aparecimento de um pequeno espaço entre suas camadas de células, diferenciando o âmnio do disco embrionário. Este se divide em duas camadas, as quais originarão todos os órgãos e tecidos do embrião: o epiblasto, voltado para a cavidade amniótica, e o hipoblasto, que revestirá uma nova cavidade em formação denominada vesícula umbilical primitiva (equivalente humano da vesícula vitelínica). Âmnio e vesícula umbilical primitiva serão posteriormente envolvidos pelo mesoderma extraembrionário, tecido conjuntivo onde, por meio da fusão de pequenos espaços celômicos iniciais, será formada uma só cavidade repleta de líquido em seu interior: o celoma. O celoma extraembrionário dará origem à cavidade coriônica, sendo a parede do saco coriônico denominada córion e constituída pelo trofoblasto em conjunto com uma fração do mesoderma extraembrionário (Moore et al, 2016).

No interior do saco coriônico estão suspensos em meio líquido: o embrião, a vesícula umbilical e o saco amniótico; ligados ao córion por um pedículo de conexão. Através desta estrutura, os vasos sanguíneos oriundos do tecido mesenquimal que formou os capilares das vilosidades coriônicas atravessam para a circulação embrionária, conectando assim a irrigação placentária ao embrião em desenvolvimento. O pedículo de conexão, aliado ao alantóide e completamente formado, recebe o nome de cordão umbilical, enquanto o cório, após fusão ao âmnio, recoberto em toda sua extensão pelas vilosidades coriônicas e totalmente funcional será denominado placenta (Moore et al, 2016).

O início do estabelecimento das vilosidades coriônicas é função adicional do mesoderma embrionário que emite projeções para dentro do sinciotrofoblasto. As vilosidades coriônicas primárias se ramificam ao final da segunda semana de desenvolvimento embrionário e passam a apresentar eixos centrais de tecido mesenquimal na terceira semana gestacional. Na sequência, algumas células mesenquimais que preencheram as projeções coriônicas iniciais se diferenciam em vasos e células sanguíneas, completando a formação das vilosidades coriônicas, por assim dizer, maduras, que realizarão as trocas de gases e nutrientes entre mãe e feto por toda gestação (Moore et al, 2016).

Em uma segunda onda de invasão trofoblástica, o citotrofoblasto viloso se diferencia no citotrofoblasto extraviloso, ultrapassando os limites das vilosidades coriônicas e invadindo a decídua basal, bem como as artérias espiraladas uterinas (Pijnenborg et al, 2011). Nesse processo, ocorre uma invasão mais profunda dos tecidos maternos, causando o remodelamento vascular endometrial e concluindo, assim, a formação estrutural da placenta (Gonçalves et al, 2019). Nesse órgão, o sangue materno flui pelos espaços intervilosos a partir das artérias espiraladas e a troca de gases e nutrientes ocorre por difusão, chegando e/ou deixando o organismo fetal por meio da irrigação placentária e sua conexão ao cordão umbilical (Moore et al, 2016).

Todo o processo de formação placentária, que se inicia com a implantação do blastocisto, não acontece sem uma intrincada rede de regulação e controle da diferenciação e invasão trofoblástica. O blastocisto só se torna invasor e capaz de aderir ao endométrio caso este esteja receptivo àquele, ou seja, o sucesso da gestação depende da sincronia entre o desenvolvimento do blastocisto e do endométrio, o que denominamos janela de implantação (Red-Horse et al, 2004; Moore et al, 2016; Felisberto, 2015). Por muito tempo, acreditou-se que o endométrio tinha função passiva na nidação; hipótese derrubada após anos de estudo sobre a implantação embrionária (Lessey, 2000). Hoje, sabe-se que diversos fatores, tanto maternos quanto embrionários, são essenciais na modulação da invasividade trofoblástica e da aderência embrionária ao endométrio, seja por ação endócrina, autócrina e/ou parácrina (Moore et al, 2016; Lessey, 2000; Cavagna et al, 2003). Participam desse processo hormônios, citocinas, prostaglandinas, enzimas e fatores de crescimento, dentre os quais destacamos a família do fator transformador de crescimento β por sua importância singular nessa dissertação (Moore et al, 2016; Cavagna et al, 2003; Red-Horse et al, 2004).

Apesar da nidação envolver, inexoravelmente, uma reação inflamatória, para que a gravidez siga seu curso também é primordial o adequado controle da extensão da inflamação gerada a nível endometrial (Watanabe et al, 2014; Goldman-Wohl et al, 2019). O estabelecimento de tolerância imunológica ao embrião depende da limitação da reação decidual por variados e complexos mecanismos, incluindo atividade hormonal do hCG, da progesterona, dos estrógenos e dos glicocorticoides (Watanabe et al, 2014). Na gestação, o deslocamento do equilíbrio de resposta por células T Helper no sentido de priorizar a atuação Th2 induz uma resposta imunológica mais

branda ao enxerto semi-alogênico que o feto representa (Watanabe et al, 2014; Sarafana et al, 2007)). A atuação Th2 perpassa pelo estímulo à produção de TGF β , o qual inibe a proliferação e diferenciação de linfócitos e controla a ativação de outros leucócitos (Watanabe et al, 2014; Sarafana et al, 2007). O antígeno leucocitário humano G (HLA-G), que é amplamente expresso na gestação e ainda mais abundante no primeiro trimestre, suprime a ativação das células natural killer (NKs) contra o embrião, além de ser um dos responsáveis por direcionar a resposta imunitária para Th2 (Goldman-Wohl et al, 2019; Watanabe et al, 2014; Sarafana et al, 2007). Tolerância imunológica sistêmica também é induzida pela presença de HLA-G solúvel (Watanabe et al, 2014).

2.2.1 O papel da ativina A no endométrio e na formação placentária

O endométrio é estrutura dinâmica responsável pelo revestimento interno do útero, composto por dois estratos celulares: o basal e o funcional (Adu-Gyamfi et al, 2020). O primeiro se localiza em posição adjacente ao endométrio, sendo responsável pela reconstrução endometrial após lesões, incluindo o estágio pós descamação menstrual (Adu-Gyamfi et al, 2020; Junqueira et al, 2013). O segundo, por sua vez, é o que sofre mais modificações durante o ciclo menstrual, sendo responsivo às alterações dos níveis hormonais de estrogênio e progesterona (Adu-Gyamfi et al, 2020; Mori et al, 2016). Quando não ocorre gravidez, a camada funcional do endométrio descama e desencadeia uma resposta inflamatória de reparação aos danos a partir do estrato basal endometrial (Adu-Gyamfi et al, 2020; Mori et al, 2016). Caso contrário, na existência de gestação, os ajustes morfológicos na camada funcional do endométrio incluem a formação de pinópodos epiteliais, a decidualização do estroma e a angiogênese, fundamentais à adequada implantação do blastocisto (Adu-Gyamfi et al, 2020; Felisberto, 2015).

Como previamente discutido, esse processo é regulado por hormônios, moléculas de adesão, citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, dentre os quais a ativina A (Adu-Gyamfi et al, 2020). Esta participa da remodelação e diferenciação endometrial com expressão variável de suas subunidades ao longo dos acontecimentos do ciclo menstrual (Adu-Gyamfi et al, 2020). O mRNA codificador da subunidade β A é expresso na superfície e no epitélio glandular do endométrio e da decídua (Adu-Gyamfi et al, 2020; Wijayarathna et al, 2016). Já os receptores para

ativina A e as SMADs estão presentes no estroma do endométrio e, após contato com a ativina A presente no fluido endometrial, induzem sinalização via proteína p38 e regulação positiva do fator de crescimento do tecido conectivo, o que favorece a remodelação e síntese da matriz extracelular (Adu-Gyamfi et al, 2020; Prakash et al, 2005; Bloise et al, 2019; Petraglia et al, 1998). A ativina A ainda estimula a secreção de interleucina 8 (IL-8), metaloproteinases de matriz (MMPs) e de fator de crescimento endotelial (VEGF), promovendo angiogênese e decidualização locais (Adu-Gyamfi et al, 2020; Bloise et al, 2019; Prakash et al, 2005). Células decidualizadas expressam ainda mais ativina A e são as maiores fontes dessa glicoproteína durante a gestação (Adu-Gyamfi et al, 2020; Bloise et al, 2019). Correlação positiva entre o nível de ativina A e o espessamento endometrial é observada na fase secretora do ciclo, o que demonstra sua importância tanto para a implantação embrionária quanto para a reestruturação endometrial após a descamação menstrual (Adu-Gyamfi et al, 2020; Bloise et al, 2019; Tu'uhevaha et al, 2019).

A presença de altas doses de ativina A no sinciciotrofoblasto em formação sugere que tal substância tenha papel importante no estímulo, por ação parácrina e autócrina, à diferenciação trofoblástica durante a formação placentária (Prakash et al, 2005; Adu-Gyamfi et al, 2020; Bloise et al, 2019; Wijayarathna et al, 2016). A ativina A atua induzindo a proliferação do citotrofoblasto e sua agregação celular, gerando a massa celular multinucleada que compõe o sinciciotrofoblasto (Adu-Gyamfi et al, 2020). Outra função da ativina A é o estabelecimento de uma maior integração entre embrião e gestante, a partir não só do estímulo à expansão do sinciciotrofoblasto no sentido de invadir a decídua materna, mas também da remodelação vascular (Pijnenborg et al, 2012; Adu-Gyamfi et al, 2020; Bloise et al, 2019). Esse vínculo garante a troca de gases e nutrientes, liberações hormonais e o estabelecimento de tolerância e vigilância imunológicas no âmbito das funções placentárias (Adu-Gyamfi et al, 2020).

Ainda que fundamental, a invasão trofoblástica, bem como todos os processos fisiológicos e/ou inflamatórios do organismo, precisa ser contida em um determinado momento a fim de prevenir o desenvolvimento placentário excessivo (Watanabe et al, 2014; Goldman-Wohl et al, 2019). A ativina A embora exerça estímulo sobre a formação placentária, também favorece o posterior surgimento de inibina A, a qual competirá por seus receptores levando ao antagonismo de sua atividade e à regulação negativa das MMPs, interrompendo assim a invasão vascular (Bloise et al, 2019).

Essa regulação parece ser bastante rígida para o melhor desempenho da gestação, o que é corroborado por alguns estudos que indicaram prejuízo na adesividade trofoblástica ao endométrio quando a ativina encontra-se em níveis patologicamente elevados (Bloise et al, 2019).

2.3 Doenças gestacionais e mau funcionamento placentário

A placenta é um órgão extremamente especializado que existe somente na gestação com o único objetivo de garantir o bem-estar fetal (Gonçalves et al, 2019). Seu desenvolvimento adequado é imprescindível para garantir o desenvolvimento fetal em sua possibilidade máxima devido às múltiplas funções que exerce (Salge et al, 2017; Oliveira et al, 2002). Assim sendo, torna-se fácil prever que alterações morfofuncionais na estrutura placentária podem ser causa de doenças gestacionais (Salge et al, 2017).

Qualquer interferência no estado de equilíbrio intrincadamente regulado da dinâmica gestacional pode afetar o bem-estar materno e fetal causando doenças gestacionais e levando a maior chance de evolução desfavorável (Salge et al, 2017). Pode-se definir gestação de alto risco “aquela na qual a vida ou a saúde da mãe e/ou do feto e/ou do recém-nascido têm maiores chances de serem atingidas que as da média da população considerada” (Ministério da Saúde, 2012; Caldeyro-Barcia, 1973).

Dentre as causas de gestação de alto risco destacam-se, nessa dissertação, as condições em que o mecanismo desencadeador de doença gestacional envolve desequilíbrio no estabelecimento da rede placentária. Nesse aspecto, existem tanto doenças relacionadas à invasão trofoblástica deficiente quanto à invasibilidade placentária excessiva (Salge et al, 2017; Gonçalves, 2019; Society for Maternal-Fetal Medicine, 2010). No primeiro caso, podem ser mencionados o abortamento espontâneo, a pré-eclâmpsia, o crescimento intrauterino restrito (CIUR) ou o pequeno para a idade gestacional (PIG), a insuficiência placentária e a prematuridade (Gonçalves, 2019). Já em relação ao segundo, identificamos como principal o acretismo placentário em todas as suas variações (placenta acreta, increta e percreta) levando a significativos riscos para o binômio mãe e filho (Gonçalves, 2019).

No que se refere à fisiopatologia das doenças gestacionais responsáveis por má perfusão placentária, com conseqüente prejuízo ao crescimento e desenvolvimento fetal, é fácil entender a influência da placentação ineficaz (Salge et

al, 2017; Gonçalves, 2019). Durante a diferenciação trofoblástica e formação do cito e sinciotrofoblasto, predomina um ambiente hipoxêmico que estimula a migração celular causando tanto a invasão endometrial quanto remodelação vascular das arteríolas espiraladas maternas (Red-Horse et al, 2004). Ao longo das semanas gestacionais do primeiro trimestre, ocorre adaptação endovascular no sentido de aumentar o diâmetro arterial para sustentar o maior aporte sanguíneo necessário para manter o feto em rápido crescimento (Red-Horse et al, 2004). Quando esse mecanismo de invasão do terço proximal da parede miometrial falha, advêm intercorrências como: abortamento espontâneo, devido a impossibilidade de nutrir e oxigenar o feto na fase inicial do seu desenvolvimento; crescimento fetal restrito decorrente da mesma dificuldade funcional, porém em estágio posterior da gestação; pré-eclâmpsia a partir da fase em que os mecanismos de compensação materna na tentativa de impedir acometimento fetal começam a ser insuficientes e passam a provocar danos ao organismo materno (Red-Horse et al, 2004; Salge et al, 2017; Gonçalves, 2019).

Outra doença gestacional ou coexistente, em que a invasão placentária pode ser insuficiente e gerar hipoxia fetal intrauterina sem uma obviedade do mecanismo envolvido é o diabetes (Santos, 2016). Nesse caso, apesar de um volume placentário geralmente aumentado e tendência a evolução com fetos grandes para a idade gestacional (GIG) ou macrossômicos, pode haver placentação deficiente (Reginatto et al, 2016; Santos, 2016). O insulto diabetogênico terá impacto placentário de acordo com a fase gestacional em que se manifesta, seja ele no menor estímulo à angiogênese vilositária e invasibilidade trofoblástica nas fases iniciais, seja no seu reduzido amadurecimento em fases posteriores, com remodelação vascular prejudicada e alteração de sua permeabilidade (Santos, 2016). Assim, apesar da possibilidade de fetos grandes e massas placentárias volumosas, a gestação da mulher diabética também está associada a riscos de insuficiência perfusional (Santos, 2016).

A prematuridade, por sua vez, é em grande parte decorrente de diversas complicações gestacionais, dentre os quais: agravamentos de doenças prévias e intercorrências específicas da gravidez que possam interferir com o bem-estar materno-fetal, tais como diabetes melitus gestacional, pré-eclâmpsia e CIUR (Ohlweiler et al, 2003; Bloise et al, 2019). Contudo, a prematuridade também pode ocorrer advinda de trabalho de parto espontâneo e/ou da ruptura prematura das

membranas ovulares, casos em que foi associada aos mesmos defeitos de placentação por meio da observação histológica do tecido endometrial (Brosens et al, 2011).

Na contramão do que se vem discutindo, reconhecemos complicações gestacionais referentes a invasibilidade trofoblástica excessiva, sem oposição adequada dos mecanismos fisiológicos de controle da placentação, gerando o acretismo placentário (Gonçalves, 2019; Society for Maternal-Fetal Medicine, 2010). Este representa fator importante de morbimortalidade materna por aumentar consideravelmente o risco de hemorragia puerperal, lesão a órgãos adjacentes, embolia de líquido amniótico, coagulopatias e intercorrências associadas a necessidade de transfusão de hemocomponentes (Society for Maternal-Fetal Medicine, 2010).

Por fim, também contribuem para morbimortalidade materno-fetal acentuada as anormalidades da localização de implantação e invasão trofoblástica, sendo responsáveis pelo aparecimento de complicações como a placenta prévia ou marginal e a gestação ectópica (Mantovani, 2013; Zugaib, 2019; Prieto-Gómez et al, 2019; Agostini, 2020). Ambas essas desordens são responsáveis por maiores chances de sangramento gestacional, necessidade de hemotransfusão materna e abordagem cirúrgica e/ou uso de medicação controlada, colocando o binômio mãe e filho em risco (Prieto-Gómez et al, 2019; Ministério da Saúde, 2012).

2.3.1 O comportamento da ativina A nas doenças gestacionais

Sabe-se atualmente que a ativina A desempenha importante papel na dinâmica da invasão trofoblástica (Adu-Gyamfi et al, 2020). Durante a gestação observa-se um incremento substancial dos níveis dessa glicoproteína, que aumentam até 66 vezes entre 6-7 semanas e 38-39 semanas gestacionais (O'Connor et al, 1999). Os mecanismos envolvidos na liberação de ativina A pela massa placentária ainda não foram completamente elucidados, mas parecem estar associados diretamente ao seu crescimento e perfusão (Bloise et al, 2019).

Como alterações na placentação podem desencadear intercorrências gestacionais, conforme discutido na sessão anterior, a hipótese de que a ativina A poderia estar envolvida na fisiopatologia das doenças e complicações da gravidez se torna plausível (Adu-Gyamfi et al, 2020; Bloise et al, 2019). Seguindo esse raciocínio,

diversos estudos avaliaram os níveis de ativina A em algumas condições patológicas, tais como a gestação ectópica, o abortamento habitual, a pré-eclâmpsia e a insuficiência placentária (Prakash et al, 2005; Spencer et al, 2008).

Foram observados menores níveis de ativina A entre 7 e 8 semanas gestacionais de pacientes assintomáticas com histórico de abortos recorrentes que evoluíram para novo episódio de perda gestacional em comparação a pacientes que não seguiram o mesmo curso (Prakash et al, 2005; Luisi et al, 2003). Também foram identificadas concentrações reduzidas de ativina A no sangue de mulheres com sinais e sintomas de gestação ectópica, ou gravidez inicial de localização indeterminada, quando comparadas a gestações intrauterinas de idade gestacional semelhante (Florio et al, 2007; Bloise et al, 2019). Esses dados sugerem que níveis séricos reduzidos de ativina A no primeiro trimestre gestacional possam estar relacionados a disfunção trofoblástico-placentária mesmo antes de aparecerem os sintomas maternos (Bloise et al, 2019).

Em relação à pré-eclâmpsia, diversos estudos identificaram níveis séricos anormalmente elevados de ativina A, desde o primeiro trimestre ou ainda entre 12 e 19 semanas de idade gestacional (Spencer et al, 2008; Muttukrishna et al, 2000; Wijayarathna et al, 2016). Esse excesso de ativina A na corrente sanguínea materna parece ser parte do mecanismo de resposta adaptativa a condições adversas durante a gestação (Bloise et al, 2019). Nesse sentido, a ativina A seria secretada após dano tecidual e teria efeito sobre seu reparo, fazendo parte da reação inflamatória desencadeada em resposta ao trauma (Bloise et al, 2019). Corroborando esse pensamento, foram encontrados níveis séricos aumentados de ativina A em gestações complicadas por descolamento prematuro de placenta e infartos placentários desde semanas antes do acontecimento (Florio et al, 2003). Por outro lado, a administração de ativina A a camundongos fêmeas durante gestação provocou estresse oxidativo, síndrome semelhante à pré-eclâmpsia com hipertensão e proteinúria, CIUR e prematuridade (Lim et al, 2015; Wijayarathna et al, 2016). Permanece, assim, incerto se o aumento de ativina A na gestação é causa ou consequência da patologia, bem como também é possível que a expressão gênica alterada de seus receptores durante a placentação esteja ligada a predisposição à doença (Lim et al, 2014; Fitzpatrick et al, 2009; Wijayarathna et al, 2016).

Elevações anormais de ativina A também foram encontradas no diabetes melitus gestacional (DMG), no CIUR e na prematuridade (Wijayarathna et al, 2016).

No diabetes melitus gestacional, houve inclusive normalização dos níveis de ativina A após a regularização glicêmica proporcionada pelo tratamento com insulina (Petraglia et al, 1995). Já no CIUR, não só foram verificados níveis até 3 vezes mais altos de ativina A sérica, como também a restrição de crescimento fetal foi provocada em fetos de camundongos fêmeas que receberam administração de ativina A durante a gestação semelhantemente ao que aconteceu com a pré-eclâmpsia (Lim et al, 2015). O comportamento da ativina A no DMG e no CIUR sugere que a ativina A esteja envolvida nos processos de regulação metabólica do binômio materno-fetal, repercutindo no desenvolvimento de doenças quando ocorre um desbalanço de sua concentração sanguínea e, conseqüentemente, impacto em sua atividade funcional (Wijayarathna et al, 2016).

2.3.2 A paridade e sua relação com as doenças gestacionais

A paridade gestacional é informação fundamental em qualquer anamnese obstétrica (Ministério da Saúde, 2012). A nuliparidade ou a multiparidade podem estar associadas a diversas intercorrências gestacionais e podem ser, inclusive, consideradas fatores de risco para várias doenças da gravidez (Goldman-Wohl et al, 2019). O fato de gestações de múltiparas tenderem a apresentar melhor prognóstico evolutivo do que gestações de primíparas é conhecimento médico antigo confirmado por diversos estudos (Bell, 2010; Hinkle et al, 2014; Eskenazi et al, 1991; Prefumo et al, 2006).

A primiparidade está associada a menor peso ao nascer, maior risco de natimortalidade, maior chance de desenvolver pré-eclâmpsia, trabalho de parto mais prolongado e menor sucesso na lactação (Goldman-Wohl et al, 2019). Por sua vez, a multiparidade se relaciona mais obviamente com o acretismo placentário, placenta prévia ou baixa e macrossomia fetal (Ministério da Saúde, 2012).

Diferenças entre primíparas e múltiparas foram estudadas em diversos âmbitos, desde epidemiológico até a base histológica e molecular envolvida na interface materno placentária, a qual poderia justificar o desenvolvimento de doenças (Brosens et al, 2011; Prefumo et al, 2006; Goldman-Wohl et al, 2019). Teorias elaboradas também consideram a memória epigenética deixada pela primeira gravidez como possível causa de uma melhor placentação em gestações

subsequentes e estendem esse mecanismo hipotético para a lactação e o trabalho de parto (Goldman-Wohl et al, 2019).

Foi demonstrado anteriormente que o organismo materno uma vez modelado por uma primeira gestação não retorna ao seu estado histológico de origem, verificado nas nulíparas (Khong et al, 2003; Prefumo et al, 2006). A arquitetura estrutural das artérias espiraladas múltiparas é diferente das nulíparas em sua proporção de tecido elástico e muscular, além do que garante uma placentação mais rápida e mais eficaz, em resposta a maiores níveis de fatores angiogênicos, que pode ser visualizada ao ultrassom numa análise comparativa entre pacientes do primeiro trimestre gestacional (Khong et al, 2003; Ballering et al, 2018; Goldman-Wohl et al, 2019).

A hipótese do estabelecimento mais eficiente da rede placentária em idade gestacional mais precoce nas múltiparas poderia explicar o maior índice de falha na indução médica do aborto terapêutico nessas pacientes por métodos farmacológicos exigindo, muitas vezes, abordagem cirúrgica com aspiração manual intrauterina (AMIU) ou curetagem convencional (Bartley et al, 2000; Haimov-Kochman et al, 2007; Odeh et al, 2010; Goldman-Wohl et al, 2019).

Além disso, tal explicação também poderia esclarecer bem o desenvolvimento de pré-eclâmpsia fundamentado em uma placentação superficial, sem completar a segunda onda de invasão placentária e o remodelamento adequado das arteríolas espiraladas (Goldman-Wohl et al, 2019; Labarrere et al, 2017; Pijnenborg et al, 2012). Isso levaria ao estreitamento da vasculatura arterial materna que irriga o leito placentário, provocando perfusão insuficiente e estresse oxidativo com dano tecidual, disfunção endotelial, resposta inflamatória e o desencadeamento da síndrome hipertensiva gestacional (Goldman-Wohl et al, 2019; Jauniaux et al, 2006; Burton et al, 2018. Redman et al, 1999).

A primiparidade como fator de risco para pré-eclâmpsia foi reconhecida ainda no século 17 por François Mauriceau (Kiple, 2003; Goldman-Wohl et al, 2019). Contudo, apenas recentemente têm se descoberto os mecanismos pelos quais se torna possível o “aprendizado” materno, partindo de uma gestação anterior para embasar resultados melhores em gestações futuras (Goldman-Wohl et al 2019). Dentre os avanços que impulsionam o conhecimento científico atual destaca-se o papel da epigenética (Portela et al, 2010; Goldman-Wohl et al 2019). Esta é que garante que seja possível que cada célula do corpo apresente o mesmo DNA apesar de adquirirem formas, tamanhos e funções diferentes de acordo com o órgão de que

fazem parte (Goldman-Wohl et al 2019). Assim, assume-se que, por processos de metilação do DNA, mudança nas histonas e expressão de RNA não codificantes, cada célula expresse um diferente conjunto de características codificadas pelo mesmo material genético, permitindo, porém, mudanças de acordo com o estilo de vida individual (Morgan et al, 2005; Delcuve et al, 2009; Goldman-Wohl et al, 2019).

De maneira semelhante, na interface materno placentária, as células *natural killer* da decídua (dNKs) de mulheres multíparas expressaram maior quantidade de receptores e secretaram mais citocinas, quimiocinas, fatores angiogênicos e fatores de crescimento do que as dNKs das primíparas (Goldman-Wohl et al, 2019). Esse fato mostrou pela primeira vez que mesmo sendo parte do sistema imune inato, existe capacidade de modulação da resposta imunológica das dNKs por meio da memória epigenética adquirida entre gestações (Sun et al, 2009; Rolle et al, 2013; Goldman-Wohl et al, 2019). Outros estudos mostraram a importância das dNKs na remodelação vascular endometrial, ampliando o lúmen das artérias espiraladas com ajuda do interferon- γ (Ashkar et al, 2001; Ratsep et al, 2015; Renaud et al, 2016). Interpretase, portanto, que a pré-eclâmpsia poderia ser menos comum em multíparas por conta de modulações epigenéticas que favoreceriam o estabelecimento placentário e tornariam a rede vascular mais eficiente, com menor propensão ao desenvolvimento da pré-eclâmpsia, dentre outras complicações gestacionais (Goldman-Wohl et al, 2019; Ratsep et al, 2015; Renaud et al, 2016).

2.4 Biomarcadores

Ao longo dos anos, a ciência tem explorado diversas entidades como biomarcadores na tentativa da predição de doenças (Gomes et al, 2018; Ray et al, 2010; Hayes, 2015). Isso significa que características biológicas tão distintas quanto estruturais, histológicas, anatômicas e fisiológicas foram exploradas a fim de se tornar indicadores da chance de ocorrência de doenças, da gravidade das mesmas e seu consequente prognóstico e/ou de medir a resposta a um tratamento (Amorim, 2003; Roche Farmacêutica Química, Ltda, 2020). Assim, podem ser considerados biomarcadores: dosagens de inúmeras substâncias séricas, urinárias ou em outras secreções; medidas ultrassonográficas; atipias encontradas em análises de lâminas de citologia e alterações estruturais observadas em tecidos histológicos (Yu et al,

2011; Heng et al, 2015; Barbosa et al, 2020; Rolim, 2021; Roche Farmacêutica Química, Ltda, 2020).

Quanto maior a facilidade na obtenção de amostras, menor o custo de seu processamento, menos invasivo o método utilizado para conseguí-lo e maior a acurácia do biomarcador em indicar ou afastar um diagnóstico, mais relevante ele é considerado, uma vez que se torna uma ferramenta útil para ajudar na tomada de decisões clínicas mais rápidas e/ou eficazes no cuidado com o paciente (Roche Farmacêutica Química Ltda, 2020; Ray et al, 2010). Dessa maneira, marcadores laboratoriais processados a partir de sangue e urina (ou outros fluidos corporais) adquirem especial valor, sendo os mais pesquisados biomarcadores médicos, tanto para testes de triagem como para testes confirmatórios (Roche Farmacêutica Química, Ltda, 2020; Gomes et al, 2018; Cartwright et al, 2009).

Como exemplo chave de marcador de doença menciona-se o antígeno prostático específico (PSA), o qual possui algumas características de biomarcador ideal: facilidade de obtenção de amostra, sendo processado em sangue periférico; baixo custo para a análise laboratorial com rapidez nos resultados e se tratar de método diagnóstico que também se presta para acompanhamento de resposta terapêutica (Ortega, 2019; Pérez-Ibave et al, 2018).

Da mesma forma como em algumas áreas do conhecimento médico temos biomarcadores muito evidentes de alguma alteração fisiológica, como na urologia identificamos o PSA, valoriza-se o conhecimento de biomarcadores em todas as outras áreas médicas. No caso da obstetrícia, diversos biomarcadores já foram ou estão sendo pesquisados para as doenças gestacionais e predição dos seus desfechos, tanto maternos como neonatais (Gomes et al, 2018).

Alguns dos biomarcadores já bem estabelecidos na obstetrícia envolvem medidas ultrassonográficas do colo uterino materno e da translucência nugal fetal, por exemplo (Nicolaidis et al, 2013; Kaplan et al, 2018). Ambos são realizados por métodos de imagem não invasivos e seguros para o binômio mãe e filho, porém o custo desses exames se torna um limitador de acesso para muitas gestantes durante o pré-natal no Brasil.

Devido ao comportamento observado da ativina A em diferentes condições gestacionais previamente abordadas, tais como o CIUR, a PE, o DMG, a gestação ectópica e os abortamentos de repetição, ela se torna um potencial biomarcador de resultados gestacionais (Adu-Gyamfi et al, 2019; Bloise et al, 2019; Wijayarathna et

al, 2016). Sua monitorização mais simples, por ser possível em amostras de sangue materno, a torna uma candidata explorada em muitos estudos científicos das últimas décadas (Lim et al, 2015; Prakash et al, 2005; Florio et al, 2003; Muttukrishna et al, 2000).

2.4.1 Ativina A e biomarcadores laboratoriais de desfechos gestacionais

Inúmeras possibilidades de biomarcadores já foram investigadas por sua associação com doenças gestacionais, dentre eles podemos citar o fator de crescimento placentário (PIGF), fator endotelial vascular de crescimento A (VEGF-A), a família do fator de crescimento transformador β (TGF- β), a subunidade β da gonadotrofina coriônica humana (β -hCG), a proteína A do plasma associada a gravidez (PAPPA), o lactogênio placentário humano (hPL), o estriol salivar, o hormônio liberador de corticotropina (CRH) e a fibronectina fetal (Hayes-Ryan et al, 2018; Smith et al, 2009; Ramsey et al, 2003; Cartwright et al, 2009; Gomes et al, 2018). Grande parte desses biomarcadores foram avaliados em sua concentração sérica e/ou urinária para diagnosticar ou prever o desenvolvimento de complicações, como a pré-eclâmpsia e o CIUR (Adu-Gyamfi et al, 2020; Bloise et al, 2019). Outras amostras incluíram swabs vaginais e secreção salivar em análises laboratoriais (Ramsey et al, 2003).

A ativina A (integrante da família TGF- β) foi validada como biomarcador sérico para pré-eclâmpsia em muitos estudos independentes (Muttukrishna et al, 2000; Wijayarathna et al, 2016; Bloise et al, 2019). Apesar de não se mostrar útil na atualidade clínica como biomarcador isolado, pesquisas conduzidas no sentido de testar a associação da ativina A com o doppler de artérias uterinas se apresentaram promissoras para a predição precoce da doença (Gomes et al, 2018; Yu et al, 2011; Florio et al, 2003; Spencer et al, 2008). Além disso, a ativina A como biomarcador sérico de gestação ectópica, bem como sua associação a outros possíveis marcadores, tais como progesterona, VEGF e inibina A, também já foi avaliada, inclusive com o desenvolvimento de um algoritmo para auxiliar o diagnóstico da complicação (Boise et al, 2019; Rausch et al, 2011; Florio et al, 2007). Ainda intercorrências gestacionais como o CIUR e o abortamento de repetição apresentam alterações na ativina A, conforme mencionado em seção anterior, o que pode marcar

essa molécula como biomarcador de interesse clínico e científico (Adu-Gyamfi et al, 2020; Prakash et al, 2005).

Além disso, algumas moléculas foram avaliadas quanto a sua dosagem urinária em associação com complicações da gestação como, por exemplo, o PIGF (Lecarpentier et al, 2019; Zen et al, 2020). A dosagem urinária é ainda mais interessante do ponto de vista de biomarcador pois se trata de uma amostra obtida de maneira não invasiva, mantendo a facilidade de processamento laboratorial e o baixo custo para sua análise (Srougi, 2018; Ortega et al, 2019). Nota-se, porém, uma escassez de pesquisas envolvendo avaliações dos níveis urinários da ativina A na gravidez.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

O objetivo central do estudo elaborado foi realizar uma análise da ativina A como biomarcador sérico e urinário em primigestas e multigestas de diferentes fases gestacionais.

3.2 Específicos

Como objetivos específicos do projeto pode-se elencar:

- Avaliar a existência de correlação entre a dosagem urinária de ativina A em comparação com a dosagem sérica de ativina A nas gestantes.
- Interpretar os níveis de ativina A ao longo da gestação a partir de dosagem de suas concentrações nos três trimestres gestacionais.
- Investigar o comportamento da ativina A na avaliação de gestantes de acordo com seu histórico gestacional, considerando-se primigestas ou multigestas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Modelo de estudo

O estudo realizado foi elaborado no modelo transversal prospectivo.

4.2 Ética

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Minas Gerais sob o protocolo de inscrição ETIC 459/07. Todos os participantes foram esclarecidos sobre o estudo e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido antes de sua inclusão na pesquisa. O referido termo se encontra disponível no Anexo I.

4.3 Participantes

Critérios de inclusão consideraram gestação em evolução de pacientes que estivessem sendo acompanhadas no pré-natal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), compreendendo atendimentos de risco habitual e alto risco. Critérios de exclusão envolveram situações e/ou condições que pudessem alterar os níveis de ativina A em decorrência de mecanismos não relacionados ao que se desejou pesquisar no estudo, portanto: trabalho de parto, rotura prematura de membranas ovulares, gestação múltipla e doença renal crônica.

Os dados clínicos foram obtidos prospectivamente por meio de entrevista presencial com as participantes e transcrição dos dados clínicos e laboratoriais do cartão da gestante (Figura 1).

CLAP-OPS / OMS HISTÓRIA CLÍNICA PERINATAL - BASE ESTABELEC. Nº H.C.

NOME: _____ IDADE: _____ Anos: _____ Menor de 15: Menor de 35: ALFABETIZADA: SIM NÃO ESTUDIOS: MICHUM SEC. ANOS APROV. ESTADO CIVIL: UNIAO CASADA ESTAVEL SOLT. OUTRO

ENDEREÇO: _____ CIDADE: _____ TEL: _____

ANTECEDENTES PESSOAIS: Não Sim TBC Diabetes Hipertensão Crônica Cirurgia Pélvico-Uterina Infertilidade OUTROS

OBSTÉTRICOS: GESTAS: ABORTOS: VAGINAIS: NASCIDOS VIVOS: VMEM: PARTOS: CESÁREAS: NASCIDOS MORTOS: DATA DO TÉRMINO GRAVIDEZ ANTERIOR: Mês: _____ Ano: _____ R N com maior peso: _____ g

GRAVIDEZ ATUAL: DIA: _____ MÊS: _____ ANO: _____ ANTITETÂNICA: não sim Atual 29/R: 1º mês gesta. GRUPO: Rh: + - FUMA: não sim CIGARROS POR DIA: _____ HOSPITALIZAÇÃO: Não Sim TRANSFERIDA: Não Sim Lugar: _____

EX.CLÍNICO normal não sim EX.MAMAS normal não sim EX. ODONT. normal não sim PELVIS normal não sim PAPANIC normal não sim COLPOSCOPIA normal não sim CERVIX normal não sim VDRL: - + DIA: _____ MÊS: _____ Hb: _____ DIA: _____ MÊS: _____

data da consulta	1	2	3	4	5	6	7	8	9
semanas de amenoréia									
peso (Kg)									
pressão arterial máx./min. (mm Hg)									
alt. uterina / Apresent. púbis fundo/cef. pelv. tr.									
B.C.F. / mov. fetal									

ABORTO: IDADE GEST. sem. menor 37 maior 41 APRES. cef. pelv. fran. TAMANHO FETAL DE ACORDO: sim não INÍCIO esp. ind. ces. elet. MEMB int. rot. TERMINAÇÃO espont. fórceps cesárea outra NIVEL DE ATENÇÃO: 3º 2º 1º domic. outro ATENDEU: médico obst. enl. auxil. estud. empir. outro INDICAÇÃO PRINCIPAL DE PARTO OPERATÓRIO OU INDUÇÃO: nenhuma gravidez múltipla hipert.prévia pre eclampsia eclampsia cardiopatia diabetes infec. urinária outras infec. parasitoses R.C.I.U. parto prem. desprop.cef. pelv. hemorragia 1º trim. hemorragia 2º trim. hemorragia 3º trim. anemia crônica rot.pre.memb. infec.puerp. hem.puerp. outros

PARTO: MORTE intraut. não sim grande EPISIOTOMIA: não sim DEQUIT. espont. sim não PLACENTA compl. sim não RECEM NASCIDO: Nº H.C. RN: _____ PARTO: NEONATO:

SEXO: f m PESO AO NASCER: _____ g menor 2500g ALTURA: _____ cm PER.CEF: _____ cm IDADE POR EX. FÍSICO: _____ sem menor 37 PESO I.G.: _____ adeq. peq. gde. APGAR 1º minuto: _____ 5º: _____ REANIM. RESPIR.: não máscara tubo VDRL: - +

EXAME FÍSICO: nenhuma mem. hialina sind. aspirat. apnea outros SDR hemorragia hiperbilirub. hematol. Infecções anomalias cong. neurológicas metaból./nutric. outras ALOJ. CONJUNTO: sim não UNIDADE NEONATAL: sim não

ALTA R.N.: hora: _____ dia: _____ mês: _____ esadio com patolog. transf. faleceu ALIMENTO: peito misto artificial PESO A ALT.: _____ g **ALTA MATERNA**: dia: _____ mês: _____ ano: _____ esadio com patolog. transf. faleceu MÉTODO A.C.: nenhum referido condon D.I.U. oral ligadura de trompas ritmo outro

OBSERVAÇÕES: _____

Pc005

Figura 1 - Caderneta da Gestante: modelo de cartão da gestante de onde se transcreveram informações referentes a dados clínicos e laboratoriais das participantes do estudo.

4.4 Coleta das amostras

Foram incluídos 43 pares de amostras de soro e urina de 25 pacientes gestantes de idades gestacionais variadas no intervalo de 45 a 268 dias. Dessas mulheres, 15 forneceram amostras para avaliação em uma única oportunidade e outras 10 pacientes colheram material para análise em mais de uma ocasião. As amostras de sangue e urina foram coletadas ambulatorialmente, entre 8 e 10 horas da manhã, sem preparação prévia das pacientes como jejum ou orientação de coleta da primeira micção do dia. O sangue foi coletado em tubo sem anticoagulante, deixado coagular à temperatura ambiente e transportado até o laboratório em caixa térmica resfriada. Na sequência, os tubos de sangue e urina foram centrifugados por 10 minutos a 3000 rpm (1200 x g) e os sobrenadantes foram aliqüotados em tubos criogênicos, que foram armazenados - 80°C até o processamento e análise do material. A tabela 1 sumariza os dados referentes às amostras disponíveis.

4.5 Análise de ativina A

A ativina A foi avaliada utilizando-se ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) de fase sólida em sanduíche usando kit comercial (EHACTIVINA, Invitrogen, ThermoFisher Scientific, Carlsbad, CA, EUA). Nesse teste, um anticorpo conhecido é fixado a uma superfície em quantidade planejada para a captura de um substrato antigênico que se deseja medir em meio líquido, uma amostra (sérica ou urinária, por exemplo). Após adição da amostra à placa de ELISA, com estabelecimento da ligação antígeno-anticorpo, lava-se o frasco para remover o excesso de antígeno não capturado. Na sequência, novos anticorpos específicos são adicionados, também reagindo com o antígeno que fica, então, preso em meio a dois anticorpos, de onde vem a denominação "sanduíche" para esse tipo de reação. Nova etapa envolve a soma de anticorpos secundários ligados a enzimas, os quais se fixam ao anticorpo de detecção da fase imediatamente anterior. Procede-se com nova lavagem da placa e remoção de conjugados enzimáticos não fixados.

Tabela 1

Características clínicas das participantes do estudo

No.	Idade (anos)	Histórico obstétrico	Desfecho gestacional	Comorbidades pré-existentes ou intercorrências	Amostras de sangue e urina (dias de gestação)
1	21	G0	PVE a termo	Nenhuma	49, 80, 182, 224
2	18	G0	Cesariana pré-termo	DM	105
3	24	G0	OS	DM	105, 153, 181, 202
4	18	G0	OS	Nenhuma	112
5	20	G0	PVE a termo	Nenhuma	112
6	18	G0	Cesariana a termo	Apresentação pélvica	142
7	18	G0	PVE pré-termo	Nenhuma	145, 187
8	28	G0	PVE a termo	Nenhuma	194
9	23	G0	PVE a termo	Nenhuma	201
10	35	G1P0	PVE a termo	TV periférica	55, 111
11	33	G1P1	OS	Nenhuma	109
12	22	G1P1	PVE a termo	DM	129
13	25	G1P1	OS	Nenhuma	150
14	29	G1P1	PVE a termo	Nenhuma	219
15	35	G2P2	PVE a termo	Nenhuma	45
16	22	G2P1	PVE a termo	Nenhuma	72
17	29	G2P2	PVE a termo	Nenhuma	94
18	32	G2P1	Cesariana pré-termo	DM, pré-eclâmpsia	104, 161
19	30	G2P2	Cesariana pré-termo	Pré-eclâmpsia	109
20	25	G2P0	Cesariana a termo	DM	133, 154, 210, 259
21	28	G2P2	PVE a termo	RN PIG	153, 254, 258
22	23	G3P1	OS	DM	68
23	32	G3P1	OS	Nenhuma	116, 165, 229
24	27	G3P3	Cesariana pré-termo	DM, anemia	117, 145
25	34	G4P3	PVE a termo	Nenhuma	130, 264

PVE: parto vaginal espontâneo; DM: diabetes mellitus; TV: trombose venosa; PS: perda de seguimento; RN PIG: recém-nascido pequeno para a idade gestacional.

Por fim, acrescenta-se produto químico à composição, o qual reage com a enzima do anticorpo secundário liberando sinal em forma de cor, fluorescência ou eletroquímica. A presença e a quantidade do antígeno que se pretende examinar é, assim, medida na placa teste por espectrofotômetro de placas no comprimento de onda de 450nm (World Health Organization, 2004; Florio et al, 2010; Reis et al, 2012; Borges et al, 2015).

Neste estudo, a sensibilidade do ensaio foi de 15 pg/mL e o intervalo linear de 20 a 5.000 pg/mL. O coeficiente de variância intra-ensaio foi inferior a 10%. A especificidade do ensaio foi demonstrada pelo fabricante por meio da ausência de reatividade cruzada com outras citocinas.

Segundo as instruções do fabricante, as amostras de soro foram pré diluídas 2 vezes no diluente de ensaio, enquanto os sobrenadantes de urina não foram pré diluídos. Os níveis de ativina A na urina foram corrigidos para as concentrações de creatinina urinária, as quais foram aferidas por ensaio enzimático automatizado (VITROS® CREA Slides, número de catálogo 680-2584, Ortho-Clinical Diagnostics, Johnson & Johnson, High Wycombe, UK) de acordo com as orientações do fabricante. Assim sendo, expressou-se em pg/mg de creatinina a dosagem de ativina A na amostra urinária.

4.6 Análise estatística

Os dados foram transformados em logaritmo na base 10 para se ajustarem a uma distribuição normal e as diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste de *t* Student não pareado. Utilizou-se o coeficiente de correlação de postos de Spearman para calcular as correlações lineares. Com base em estudos prévios (D'Antona et al, 2000; Diesch et al, 2006), calculamos que o tamanho da amostra efetivamente estudada confere poder estatístico de 80% para identificar diferenças nos níveis de ativina A sérica ou urinária ≥ 1.000 pg/mL entre os grupos, com nível de confiança de 95%.

5. RESULTADOS

No total, foram avaliadas 43 amostras de 25 pacientes gestantes, sendo 9 primigestas e 16 multigestas (Tabela 1). No que se refere às características dos grupos analisados, pôde-se observar, como é de se esperar, idade materna mais avançada no grupo de multigestas em comparação com o grupo de primigestas, variando de $21 \pm 1,2$ anos nas primigestas para $29 \pm 1,1$ anos na multigestas ($p = 0,0002$). Contudo, os grupos foram semelhantes quando se buscou avaliar o índice de massa corporal (IMC) pré gestacional das pacientes. Nesse aspecto, foi identificado IMC de $22 \pm 1,2$ Kg/m² nas primigestas e de $24 \pm 1,1$ Kg/m² nas multigestas ($p = 0,217$). Apenas uma paciente, do grupo das multigestas, informou tabagismo como hábito de vida na anamnese médica direcionada.

Em relação aos resultados, observou-se que de uma maneira geral a ativina A sérica se correlacionou positivamente com a idade gestacional ($r = 0,398$; $p = 0,010$), apesar de que esse efeito foi mais claramente observado na análise das múltiparas que das primíparas (Figura 2). Enquanto a ativina A sérica nas multigestas apresentou elevação de acordo com o trimestre gestacional ($p = 0,025$); em níveis crescentes de acordo com a progressão da gravidez, sendo sua concentração 583 ± 408 pg/mL no primeiro, 1040 ± 384 pg/mL no segundo e 2676 ± 840 pg/mL no terceiro trimestres; não houve alteração significativa dos níveis séricos de ativina A nas primigestas ao longo da gestação (Figura 3). Ainda considerando os níveis séricos de ativina A na gestação de multigestas e primigestas, foi identificada concentração de 2676 ± 840 pg/mL no terceiro trimestre gestacional das multigestas em comparação com 793 ± 227 ng/mL no terceiro trimestre gestacional das primigestas ($p = 0,034$; Figura 3).

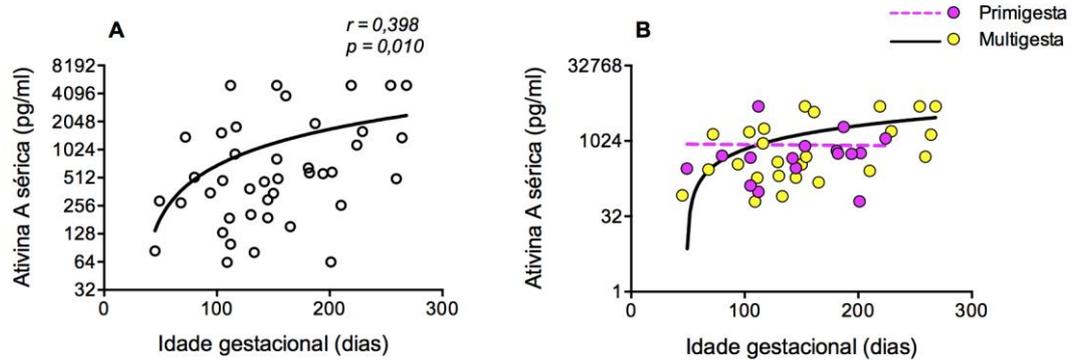


Figura 2 – Ativina A sérica vs. idade gestacional: o gráfico A demonstra a correlação positiva entre os níveis de ativina A sérica e a idade gestacional. O gráfico B evidencia o aumento mais expressivo dos níveis de ativina A sérica de acordo com a idade gestacional nas multíparas do que nas primíparas

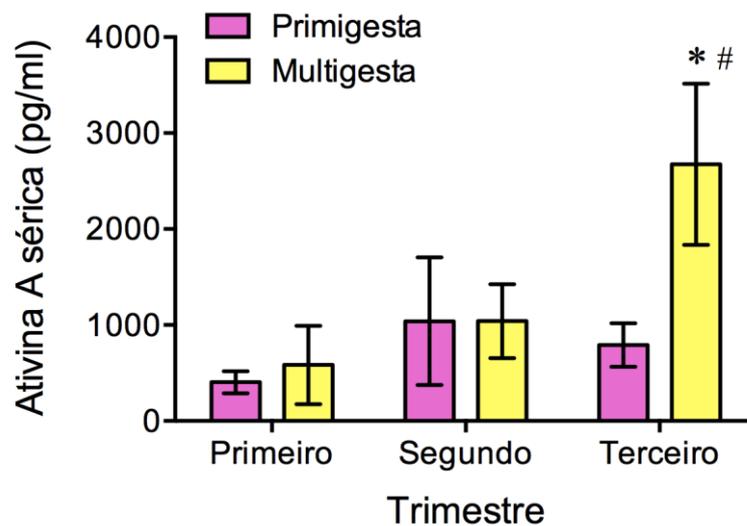


Figura 3 - Ativina A sérica em primigestas e multigestas vs. trimestre gestacional: o nível sérico de ativina A elevou-se consideravelmente de acordo com a progressão gestacional. Tal fato não foi observado nas primigestas. * $p < 0,05$ vs. primigestas. # $p < 0,05$ em relação ao primeiro trimestre. Dados informados em média \pm desvio padrão.

Ao analisar-se a concentração de ativina A no soro e na urina de pacientes gestantes, foi possível concluir-se pela inexistência de correlação entre níveis dessa substância nas amostras avaliadas ($r = 0,149$, $p = 0,359$; Figura 4), ou seja, a concentração sérica de ativina A não se apresentou proporcional aos níveis de excreção urinária da mesma substância. Além disso, não houve associação nem dos níveis séricos nem urinários de ativina A quando analisados em relação à idade materna ($r = 0,06$ no soro e $r = 0,04$ na urina).

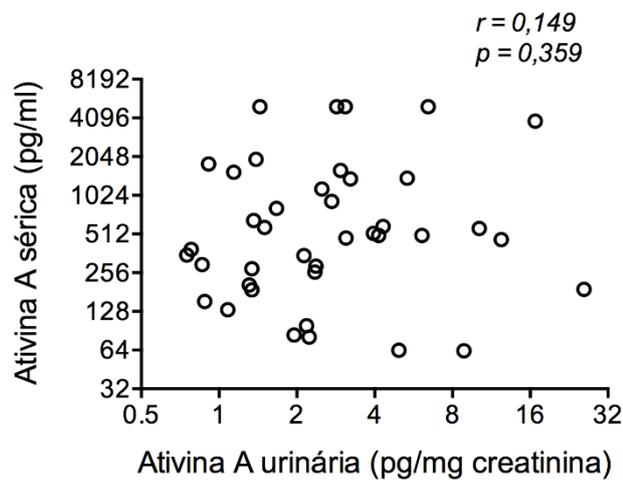


Figura 4 - Ativina A sérica e sua excreção urinária: não se observou correlação entre os níveis séricos e urinários de ativina A.

Considerando apenas os valores urinários de ativina A, também não observamos relação com a idade gestacional ($r = 0,240$, $p = 0,125$; Figura 5). As concentrações de ativina A na urina foram aferidas de 0,75 a 26 pg/mg de creatinina nas amostras examinadas e nenhuma associação válida foi encontrada em termos de variação da concentração de ativina A urinária entre os dois grupos (multigestas e primigestas) ou em qualquer fase gestacional das mulheres de ambos os grupos; identificamos $p = 0,623$ no primeiro trimestre gestacional, $p = 0,737$ no segundo e $p = 0,953$ no terceiro trimestre (Figura 6).

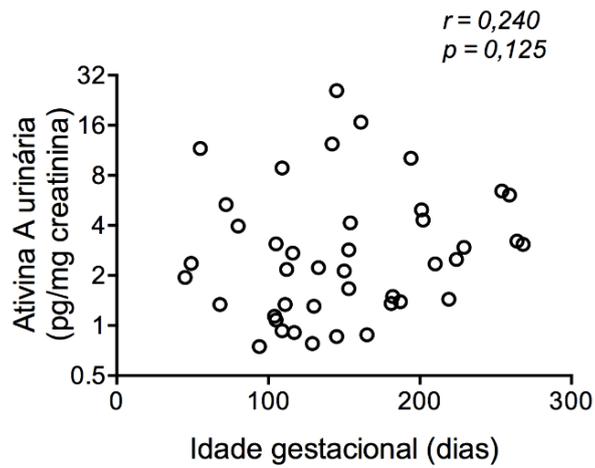


Figura 5 - Concentrações urinárias de ativina A em relação à idade gestacional: não foi possível estabelecer associação entre os níveis urinários de ativina A e o avançar da gestação

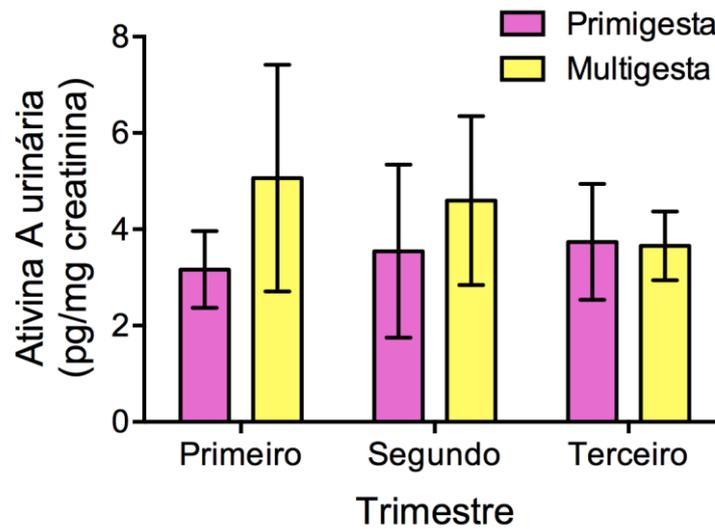


Figura 6 - Ativina A urinária em primigestas e multigestas nos diferentes estágios da gestação: não houve variação nas concentrações de ativina A urinária entre os grupos nem nos trimestres gestacionais considerando-se individualmente os grupos de primigestas e multigestas. Dados informados em média \pm desvio padrão.

6. DISCUSSÃO

Os resultados encontrados neste estudo corroboram evidências anteriores de que a ativina A sérica materna aumenta progressivamente durante a gestação e atinge níveis máximos próximo ao termo (D'Antona et al, 2000; O'Connor et al, 1999). De forma geral, também encontramos significância estatística na correlação positiva entre os níveis de ativina A e a idade gestacional. Nenhum estudo prévio, porém, havia examinado separadamente a evolução dos níveis de ativina A de acordo com o passado obstétrico da mulher, avaliando suas concentrações nas diferentes fases gestacionais e as associando com a paridade da paciente. Nesse sentido, esta análise identificou, de maneira inédita, o aumento progressivo da ativina A de acordo com a progressão da gravidez evidente em multigestas, sendo, contudo, inexistente nas primigestas.

Hormônios que possuem origem placentária predominante tendem a aumentar sua concentração sérica acompanhando o crescimento placentário, apresentando pico no terceiro trimestre gestacional. Nesse caso, surge a necessidade de se estabelecer valores de referência da normalidade para cada trimestre, mês ou semana da gravidez, a fim de que possamos interpretar os resultados da avaliação dos níveis hormonais em relação aos parâmetros correspondentes de idade gestacional (Lai et al, 2013; Li et al, 2016; Spencer, Cowans e Nicolaidis, 2008).

Outra observação importante envolve considerar a paridade gestacional. Em geral, os parâmetros que estabelecem valores de normalidade não consideram esta questão, porém os resultados deste estudo levantam esse ponto para adequação caso a hipótese de que níveis séricos de ativina A são relativamente estáveis na primeira gestação se confirme por pesquisas e avaliações mais representativas, com amostras maiores. Esse fato nos leva a considerar utilizar valores de referência diferentes para ativina A, e possivelmente outros hormônios placentários, a depender não só da fase gestacional, mas também da paridade da paciente.

Os mecanismos pelos quais primigestas e multigestas apresentam particularidades na concentração sérica de ativina A ainda necessitam investigações, porém podem estar relacionados à participação da resposta imune decidual (Godlman-Wohl et al, 2019). Esse mecanismo é coerente com vias inflamatórias que convergem para a secreção de ativina A pela placenta e membranas fetais (Rosenberg et al, 2012). Como exemplo, apresenta-se a interleucina (IL) - 1β que

estimula a secreção *in vitro* de ativina A em cultura de citotrofoblastos humanos isolados do tecido viloso coriônico de placentas do primeiro trimestre gestacional (Bearfield et al, 2005). Também foi verificada produção *in vitro* de ativina A pelo aminiocórion humano em resposta ao estímulo inflamatório de lipopolissacarídeos bacterianos (Rosenberg et al, 2012). Além disso, níveis baixos maternos de ativina A sérica foram associados com aumento do risco de recaída em mulheres com esclerose múltipla, uma doença autoimune (Cuello et al, 2020).

Esta pesquisa foi elaborada considerando a importância de se obter um marcador de desfecho gestacional acessível, propondo-se a estudar o comportamento da ativina A de acordo com a paridade gestacional e procurando-se estabelecer a potencial participação da ativina A nos mecanismos adaptativos, possivelmente associados a memória imunológica, do desenvolvimento placentário. Nesse sentido, avaliou-se a concentração urinária de ativina A materna, com o intuito de correlacioná-la à dosagem sérica dessa substância, haja vista que a urina tem especial valor como amostra devido à sua facilidade e segurança na obtenção por coleta não invasiva para processamento laboratorial.

Observou-se, porém, que a excreção urinária de ativina A não reflete as concentrações séricas desse hormônio, pelo menos não quando comparadas amostras únicas de soro e urina após coleta numa mesma oportunidade. Embora a excreção urinária de ativina A possa resultar em parte da produção local dessa substância no rim (Tuuri et al, 1994), seu interesse clínico em mulheres grávidas não é avaliar a função renal, mas sim a secreção placentária de ativina A na circulação materna, filtrada pelos rins. Sendo assim, nossa hipótese foi descartada no sentido de se considerar as amostras urinárias como fontes para a dosagem adequada do biomarcador avaliado. Portanto, é improvável que ensaios urinários venham substituir a ativina A sérica na avaliação da unidade feto-placentária, seja no diagnóstico diferencial de abortos espontâneos de primeiro trimestre (Refaat e Bahathiq, 2020) seja em complicações gestacionais desenvolvidas ao longo do segundo e terceiro trimestres (Hao et al, 2020).

Quanto às limitações desse estudo, ressalta-se que o tamanho amostral foi calculado para comparar os dois principais grupos, mas não apresentou poder estatístico suficiente para análise de subgrupos estratificados por risco materno ou obstétrico. Apesar de alguns participantes terem contribuído com amostras em momentos diversos da gestação, devido a perdas de seguimento de pacientes, esse

número não permitiu uma análise pareada dos níveis de ativina A na mesma mulher em diferentes idades gestacionais. Além disso, essa pesquisa foi realizada em um único centro de medicina perinatal e os participantes incluídos não podem, portanto, representar fielmente outros grupos demográficos.

Em contrapartida, a metodologia envolvida na elaboração deste estudo garante seus pontos fortes. Cita-se aqui seu desenho prospectivo e a determinação precisa da idade gestacional durante o acompanhamento pré-natal, bem como a criteriosa coleta de dados sobre as condições de saúde da gestante e a coleta simultânea de amostras de sangue e urina para análise laboratorial.

7. CONCLUSÕES

Como conclusão do estudo realizado, tem-se que os níveis de ativina A sérica aumentaram no terceiro trimestre apenas em multigestas, cujos níveis tornaram-se mais altos do que aqueles encontrados em primigestas de mesma fase gestacional. A dosagem urinária de ativina A não se correlacionou com os níveis séricos de ativina A e não variou nem entre primigestas e multigestas nem entre trimestres gestacionais. Tais dados sugerem que a ativina A sérica pode variar menos durante a primeira gestação, enquanto a ativina A urinária provavelmente não substituirá os níveis sistêmicos desse hormônio como biomarcador de desfechos gestacionais.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdipranoto-Cowley A, Park JS, Croucher D, Daniel J, Henshall S, Galbraith S, Mervin K, Vissel B. *Activin A is essential for neurogenesis following neurodegeneration*. Stem Cells 27: 1330 –1346, 2009. doi:10.1002/stem.80.
2. Adu-Gyamfi, E. A., J. Lamptey, F. Duan, Y. X. Wang, and Y. B. Ding. 2019. *The transforming growth factor β superfamily as possible biomarkers of preeclampsia: A comprehensive review*. Biomarkers in Medicine 13:1321–30. DOI:10.2217/bmm-2019-0208.
3. Agostini, T.C.F., Figueiredo, R., Warmbrand, G., Torres, U.S., Pria, H.R.F.D. and D'Ippolito, G., 2020. *Placental adhesion disorder: magnetic resonance imaging features and a proposal for a structured report*. Radiologia Brasileira, 53, pp.329-336.
4. Amorim LC. *Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais*. Revista Brasileira de Epidemiologia. 2003 Jun;6(2):158-70.
5. Apostolou E, Stavropoulos A, Sountoulidis A, Xirakia C, Giaglis S, Protopapadakis E, Ritis K, Mentzelopoulos S, Pasternack A, Foster M, Ritvos O, Tzelepis GE, Andreacos E, Sideras P. *Activin-A overexpression in the murine lung causes pathology that simulates acute respiratory distress syndrome*. Am J Respir Crit Care Med 185: 382–391, 2012. doi:10.1164/rccm.201105-0784OC.
6. Appiah Adu-Gyamfi, E., F. Tanam Djankpa, W. Nelson, A. Czika, S. Kumar Sah, J. Lamptey, Y. B. Ding, and Y. X. Wang. 2020. *Activin and inhibin signaling: From regulation of physiology to involvement in the pathology of the female reproductive system*. Cytokine 133:155105. DOI:10.1016/j.cyto.2020.155105.
7. Ashkar, A.A.; Croy, B.A. *Functions of uterine natural killer cells are mediated by interferon gamma production during murine pregnancy*. Seminars in Immunology, Volume 13, Issue 4, 2001, Pages 235-241, ISSN 1044-5323. DOI:10.1006/smim.2000.0319.
8. Barbosa MG, da Silva EI, Barros ÉF, da Silva MM, Dos Santos SM, de Oliveira Lins SR. *Alterações citológicas e marcadores tumorais específicos para o câncer de mama*. Brazilian Journal of Development. 2020 Aug 20;6(8):59977-92. DOI: 10.34117/bjdv6n8-421

9. Ballering, G.; Leijnse, J.; Eijkelkamp, N.; Peeters, L.; Heus, R. *First-trimester placental vascular development in multiparous women differs from that in nulliparous women*. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 2018. 31:2, 209-215. DOI: 10.1080/14767058.2017.1280020
10. Bartley, J.; Tong, S.; Everington, D.; Baird, D.T. *Parity is a major determinant of success rate in medical abortion: a retrospective analysis of 3161 consecutive cases of early medical abortion treated with reduced doses of mifepristone and vaginal gemeprost*. Contraception, Volume 62, Issue 6, 2000, Pages 297-303, ISSN 0010-7824. DOI 10.1016/S0010-7824(00)00187-6.
11. Bayne, R. A., S. L. Eddie, C. S. Collins, A. J. Childs, H. N. Jabbour, and R. A. Anderson. 2009. *Prostaglandin E2 as a regulator of germ cells during ovarian development*. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 94:4053–60. DOI: 10.1210/jc.2009-0755.
12. Bearfield, C., E. Jauniaux, N. Groome, I. L. Sargent, and S. Muttukrishna. 2005. *The secretion and effect of inhibin A, activin A and follistatin on first-trimester trophoblasts in vitro*. European Journal of endocrinology/European Federation of Endocrine Societies 152:909–16. DOI:10.1530/eje.1.01928.
13. Bell, M.J. *A Historical Overview of Preeclampsia-Eclampsia*, Journal of Obstetric, Gynecologic & Neonatal Nursing, Volume 39, Issue 5, 2010, Pages 510-518, ISSN 0884-2175. DOI: 10.1111/j.1552-6909.2010.01172.x.
14. Bloise, E., P. Ciarmela, C. Dela Cruz, S. Luisi, F. Petraglia, and F. M. Reis. 2019. *Activin A in mammalian physiology*. Physiological Reviews 99:739–80. DOI:10.1152/physrev.00002.2018.
15. Borges, L.E.; Bloise, E.; Cruz, C.D.; Massai, L.; Ciarmela, P.; Luisi, R.A.S.; Severi, F.M.; Petraglia, F.; Reis, F.M. (2015). *Expression, localization and control of activin A release from human umbilical vein endothelial cells*, Growth Factors, 33:4, 243-249. DOI: 10.3109/08977194.2015.1071809.
16. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. *Gestação de alto risco: manual técnico*. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. 5. ed. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010. 302 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos) ISBN 978-85-334-1767-0.
17. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. *Gestação de alto risco: manual técnico*.

- Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. 5. ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2012. 302 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos) ISBN 978-85-334-1767-0
18. Brosens, I., R. Pijnenborg, L. Vercruyssen, and R. Romero. 2011. *The “Great obstetrical syndromes” are associated with disorders of deep placentation*. American Journal of Obstetrics and Gynecology 204:193–201. DOI:10.1016/j.ajog.2010.08.009.
 19. Bruce A. Lessey, *Endometrial receptivity and the window of implantation*, Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology, Volume 14, Issue 5, 2000, Pages 775-788, ISSN 1521-6934. DOI 10.1053/beog.2000.0118.
 20. Burton, G.J.; Jauniaux, E. *Pathophysiology of placental-derived fetal growth restriction*, American Journal of Obstetrics and Gynecology, Volume 218, Issue 2, Supplement, 2018, Pages S745-S761, ISSN 0002-9378, DOI: 10.1016/j.ajog.2017.11.577.
 21. Caldeyro-Barcia, R et al. *Frecüência Cardíaca y equilibrio acido base Del feto*. Montevideo: Centro Latinoamericano Perinatología y Desarrollo Humano, 1973 (Publicacion Científica Del CLAP, n.519).
 22. Cartwright J, Duncan WC, Critchley HO, Horne AW. *Serum biomarkers of tubal ectopic pregnancy: current candidates and future possibilities*. Reproduction. 2009 Jul 1;138(1):9.
 23. Cavagna, M.; Mantese, J.C. *Biomarkers of Endometrial Receptivity—A Review*, Placenta, Volume 24, Supplement 2, 2003, Pages S39-S47, ISSN 0143-4004. DOI:10.1016/S0143-4004(03)00184-X.
 24. Chen JL, Walton KL, Hagg A, Colgan TD, Johnson K, Qian H, Gregorevic P, Harrison CA. *Specific targeting of TGF- family ligands demonstrates distinct roles in the regulation of muscle mass in health and disease*. Proc Natl Acad Sci USA 114: E5266 – E5275, 2017. doi:10.1073/pnas.1620013114.
 25. Cuello, J. P., M. L. Martínez Ginés, A. Tejada-Velarde, S. Medina Heras, J. M. García Domínguez, J. I. Fernández Velasco, A. Lozano Ros, Y. Higuera, A. Meldaña Rivera, H. Goicochea Briceño, et al. 2020. *Cytokine profile during pregnancy predicts relapses during pregnancy and postpartum in multiple sclerosis*. Journal of the Neurological Sciences 414:116811. DOI:10.1016/j.jns.2020.116811.

26. D'Antona, D., F. M. Reis, C. Benedetto, L. W. Evans, N. P. Groome, D. M. De Kretser, E. M. Wallace, and F. Petraglia. 2000. *Increased maternal serum activin A but not follistatin levels in pregnant women with hypertensive disorders.* The Journal of Endocrinology 165:157–62. DOI:10.1677/joe.0.1650157.
27. Delcuve GP, Rastegar M, Davie JR. *Epigenetic control.* Journal of cellular physiology. 2009 May;219(2):243-50. DOI: 10.1002/jcp.21678.
28. Diesch, C. H., W. Holzgreve, S. Hahn, and X. Y. Zhong. 2006. *Comparison of activin A and cell-free fetal DNA levels in maternal plasma from patients at high risk for preeclampsia.* Prenatal Diagnosis 26:1267–70. DOI:10.1002/pd.1606.
29. Eskenazi B, Fenster L, Sidney S. *A Multivariate Analysis of Risk Factors for Preeclampsia.* JAMA. 1991;266(2):237–241. DOI: 10.1001/jama.1991.03470020063033
30. Felisberto, V.A.J.C.S. *Biomarcadores de receptividade endometrial e implantação embrionária.* Orientador: Pereira, I.S. 2015. Dissertação (Mestrado integrado em medicina) - Universidade do Porto, Porto, 2015. p. 31.
31. Fitzpatrick, E.; Johnson, M.P.; Dyer, T.D.; Forrest, S.; Elliott, K.; Blangero, J.; Brennecke, S.P.; Moses, E.K. *Genetic association of the activin A receptor gene (ACVR2A) and pre-eclampsia,* Molecular Human Reproduction, Volume 15, Issue 3, March 2009, Pages 195–204. DOI: 10.1093/molehr/gap001.
32. Florio P, Bruni L, Galleri L, Reis FM, Borges LE, Bocchi C, Litta P, De Leo V, Petraglia F. *Evaluation of endometrial activin A secretion for prediction of pregnancy after intrauterine insemination.* Fertil Steril. 2010 May 1;93(7):2316-20. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2008.12.125. Epub 2009 Feb 6. PMID: 19200970.
33. Florio P, Cobellis L, Luisi S, Severi FM, Bocchi C, Petraglia F. 2001. *Changes in inhibins and activin secretion in healthy and pathological pregnancies.* Mol Cell Endocrinol 180:123–130.
34. Florio P, Reis FM, Pezzani I, Luisi S, Severi FM, Petraglia F. *The addition of activin A and inhibin A measurement to uterine artery Doppler velocimetry to improve the early prediction of pre-eclampsia.* Ultrasound Obstet Gynecol 21: 165–169, 2003. DOI:10.1002/uog.29.
35. Florio P, Severi FM, Bocchi C, Luisi S, Mazzini M, Danero S, Torricelli M, Petraglia F. *Single serum activin a testing to predict ectopic pregnancy.* J Clin Endocrinol Metab 92: 1748 –1753, 2007. DOI:10.1210/jc.2006-2188.

36. Florio P, Severi FM, Bocchi C, Luisi S, Petraglia F. *Abruptio placentae and highest maternal serum activin A levels at mid-gestation: a two cases report*. Placenta 24: 279 –280, 2003. DOI:10.1053/plac.2002.0896.
37. Fukamachi H, Kato S, Asashima M, Ichinose M, Yuasa Y. *Activin A regulates growth of gastro-intestinal epithelial cells by mediating epithelial-mesenchymal interaction*. Dev Growth Differ 55: 786 –791, 2013. doi:10.1111/dgd.12102.
38. Goldman-Wohl, D., M. Gamliel, O. Mandelboim, and S. Yagel. 2019. *Learning from experience: Cellular and molecular basis for improved outcome in subsequent pregnancies*. American Journal of Obstetrics and Gynecology 221:183–93. DOI:10.1016/j.ajog.2019.02.037.
39. Gomes HCS, Cabral AC, Teixeira PG. *Biomarcadores utilizados na predição de pré-eclâmpsia*. Rev Med Minas Gerais. 1998;2018(28).
40. Gonçalves, C.M. *Análise funcional do silenciamento gênico de versicam em células trofoblásticas e sua implicação em doenças gestacionais*. Orientador: Borbely, A.U. 2019. 103 p. Dissertação (Mestrado em ciências da saúde) - Instituto de ciências biológicas e da saúde, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2019.
41. Guo, H. X., Y. B. Zhu, C. P. Wu, M. Zhong, and S. W. Hu. 2019. *Potential urine biomarkers for gestational hypertension and preeclampsia*. Molecular Medicine Reports 19:2463–70. DOI:10.3892/mmr.2019.9911.
42. Hadjidakis DJ, Androulakis II. *Bone remodeling*. Ann N Y Acad Sci 1092: 385–396, 2006. doi:10.1196/annals.1365.035.
43. Haimov-Kochman, R.O.N.I.T., Arbel, R., Sciaky-Tamir, Y. A. E. L., Brzezinski, A., Laufer, N.; Yagel, S. (2007). *Risk factors for unsuccessful medical abortion with mifepristone and misoprostol*. Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica, 86(4), 462-466. DOI: 10.1080/00016340701203632.
44. Hao, S., J. You, L. Chen, H. Zhao, Y. Huang, L. Zheng, L. Tian, I. Maric, X. Liu, T. Li, et al. 2020. *Changes in pregnancy-related serum biomarkers early in gestation are associated with later development of preeclampsia*. PloS One 15:e0230000. DOI:10.1371/journal.pone.0230000.
45. Hayes DF. *Biomarker validation and testing*. Molecular oncology. 2015 May 1;9(5):960-6.

46. Hayes-Ryan D, McCarthy FP, O'Donoghue K, Kenny LC. *Placental growth factor: A review of literature and future applications*. Pregnancy hypertension. 2018 Mar 10;1-6. DOI: 10.1016/j.preghy.2018.03.003.
47. Heng YJ, Liong S, Permezel M, Rice GE, Di Quinzio MK, Georgiou HM. *Human cervicovaginal fluid biomarkers to predict term and preterm labor*. Frontiers in physiology. 2015 May 13; 6:151. DOI: 10.3389/fphys.2015.00151
48. Hinkle SN, Albert PS, Mendola P, Sjaarda LA, Yeung E, Boghossian NS, Laughon SK. *The association between parity and birthweight in a longitudinal consecutive pregnancy cohort*. Paediatric and perinatal epidemiology. 2014 Mar;28(2):106-15.
49. Jauniaux, E.; Poston, L.; Burton, G.J. *Placental-related diseases of pregnancy: involvement of oxidative stress and implications in human evolution*, Human Reproduction Update, Volume 12, Issue 6, November/December 2006, Pages 747–755. DOI: 10.1093/humupd/dml016.
50. Khong, T.Y.; Adema, E.D.; Erwich, J.J.H.M. *On an anatomical basis for the increase in birth weight in second and subsequent born children*. Placenta, 24 (2003), pp. 348-353.
51. Kiple, K. *The Cambridge dictionary of diseases: eclâmpsia*. 1. ed. Nova Iorque: The Cambridge Press, 2003. cap. 45, p. 110. ISBN 0-521-53026-1.
52. Kupersmidt, L., Amit, T., Bar-Am, O., Youdim, M.B.H. and Blumenfeld, Z. (2007), *The neuroprotective effect of Activin A and B: implication for neurodegenerative diseases*. Journal of Neurochemistry, 103: 962-971. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04785.x>
53. Labarrere, C.A.; DiCarlo, H.L.; Bammerlin, E.; Hardin, J.W.; Kim, Y.M.; Chaemsaithong, P.; Haas, D.M.; Kassab, G.S.; Romero, R. *Failure of physiologic transformation of spiral arteries, endothelial and trophoblast cell activation, and acute atherosclerosis in the basal plate of the placenta*. American Journal of Obstetrics and Gynecology, Volume 216, Issue 3, 2017, Pages 287.e1-287.e16, ISSN 0002-9378. DOI: 10.1016/j.ajog.2016.12.029.
54. Lai, J., A. Pinas, A. Syngelaki, L. C. Poon, and K. H. Nicolaides. 2013. *Maternal serum activin-A at 30-33 weeks in the prediction of preeclampsia*. The Journal of Maternal-fetal & Neonatal Medicine: The Official Journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal

- Societies, the International Society of Perinatal Obstet 26:733–37. DOI:10.3109/14767058.2012.755167.
55. Langdahl B, Ferrari S, Dempster DW. *Bone modeling and remodeling: potential as therapeutic targets for the treatment of osteoporosis*. Ther Adv Musculoskelet Dis 8: 225–235, 2016. doi:10.1177/1759720X16670154.
56. La Roche Pharmaceuticals. *O que são biomarcadores?* [S. l.], 2020. Disponível em: <https://www.corporate.roche.pt/pt/inovacao-e-desenvolvimento0/ensaios-clinicos/ensaios-clinicos-para-profissionais-de-saude/o-que-sao-biomarcadores-.html>. Acesso em: 20 dez. 2021.
57. Lecarpentier, E., J. C. Gris, E. Cochery-Nouvellon, E. Mercier, H. Abbas, R. Thadhani, S. A. Karumanchi, and B. Haddad. 2019. *Urinary placental growth factor for prediction of placental adverse outcomes in high-risk pregnancies*. Obstetrics and Gynecology 134:1326–32. DOI: 10.1097/aog.0000000000003547.
58. Li, L., Y. Zheng, Y. Zhu, and J. Li. 2016. *Serum biomarkers combined with uterine artery doppler in prediction of preeclampsia*. Experimental and Therapeutic Medicine 12:2515–20. DOI: 10.3892/etm.2016.3625.
59. Lim R, Acharya R, Delpachitra P, Hobson S, Sobey CG, Drummond GR, Wallace EM. *Activin and NADPH-oxidase in preeclampsia: insights from in vitro and murine studies*. Am J Obstet Gynecol 2015; 212:86e1 – 8612. ISSN 0002-9378. DOI: 10.1016/j.ajog.2014.07.021.
60. Luisi S, Florio P, D'Antona D, Severi FM, Sanseverino F, Danero S, Petraglia F. *Maternal serum inhibin A levels are a marker of a viable trophoblast in incomplete and complete miscarriage*. Eur J Endocrinol 148: 233–236, 2003. DOI: 10.1530/eje.0.1480233.
61. Luisi S, Lombardi I, Florio P, Cobellis L, Iughetti L, Bernasconi S, Genazzani AR, Petraglia F. *Serum activin A levels in males and females during pubertal development*. Gynecol Endocrinol 15: 1– 4, 2001. DOI: 10.1080/gye.15.1.1.4.
62. Maeshima A, Shiozaki S, Tajima T, Nakazato Y, Naruse T, Kojima I. *Number of glomeruli is increased in the kidney of transgenic mice expressing the truncated type II activin receptor*. Biochem Biophys Res Commun 268: 445– 449, 2000. doi:10.1006/bbrc.2000.2171.

63. Mangiacapra FJ, Fransen ME, Lemanski LF. *Activin A and transforming growth factorbeta stimulate heart formation in axolotls but not rescue cardiac lethal mutants*. Cell Tissue Res 282: 227–236, 1995. doi:10.1007/BF00319114.
64. Mantovani, E.R. *Exame anatomo-patológico da placenta: contribuições para o diagnóstico clínico*. Orientador: AMARAL, M.A. 2013. 44 p. Monografia (Especialização em enfermagem obstétrica) - Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.
65. Mayer K, Buchbinder A, Morty RE. *Activin A: a mediator governing inflammation, immunity, and repair*. Am J Respir Crit Care Med 185: 350 –352, 2012. doi:10.1164/ rccm.201112-2210ED.
66. Mescher, Anthony L. *Junqueira's basic histology: text and atlas*. Vol. 12. 13th ed. New York: McGraw-Hill Medical, 2013.
67. Moore, K.L. *Embriologia clínica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. 524 p. ISBN 978-85-352-8383-9.
68. Morgan, H.D.; Santos, F.; Green, K.; Dean, W.; Reik, W. *Epigenetic reprogramming in mammals*, Human Molecular Genetics, Volume 14, Issue suppl_1, 15 April 2005, Pages R47–R58. DOI: 10.1093/hmg/ddi114.
69. Mori, M., Bogdan, A., Balassa, T. *et al*. *The decidua—the maternal bed embracing the embryo—maintains the pregnancy*. Semin Immunopathol 38, 635–649 (2016). DOI: 10.1007/s00281-016-0574-0.
70. Mukerji, S.S., Rainey, R.N., Rhodes, J.L. and Hall, A.K. (2009). *Delayed activin A administration attenuates tissue death after transient focal cerebral ischemia and is associated with decreased stress-responsive kinase activation*. Journal of Neurochemistry, 111: 1138-1148. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06406.x>
71. Muttukrishna, S.; North, R.A.; Morris, J.; Schellenberg, J.C.; Taylor, R.S.; Asselin, J.; Ledger, W.; Groome, N.; Redman, C.W.G. *Serum inhibin A and activin A are elevated prior to the onset of pre-eclampsia*, Human Reproduction, Volume 15, Issue 7, 1 July 2000, Pages 1640–1645. DOI: 10.1093/humrep/15.7.1640.
72. Nicolaides, K.H., Wright, D., Poon, L.C., Syngelaki, A. and Gil, M.M. (2013), *First-trimester contingent screening for trisomy 21 by biomarkers and maternal blood cell-free DNA testing*. Ultrasound Obstet Gynecol, 42: 41-50. DOI: 10.1002/uog.12511

73. O'Connor AE, McFarlane JR, Hayward S, Yohkaichiya T, Groome NP, de Kretser DM. *Serum activin A and follistatin concentrations during human pregnancy: a cross-sectional and longitudinal study*. Hum Reprod. 1999 Mar;14(3):827-32. DOI: 10.1093/humrep/14.3.827. PMID: 10221721.
74. Odeh, M. D.M., Tendler, M.D.R.; Kais, M.D.M., Maximovsky, M.D.O.; Ophir, M.D.E.; Bornstein, M.D.J. *Early Pregnancy Failure: Factors affecting successful medical treatment*. 2010, 27, 7-15.
75. Oh SP, Li E. *The signaling pathway mediated by the type IIB activin receptor controls axial patterning and lateral asymmetry in the mouse*. Genes Dev 11: 1812–1826, 1997. doi:10.1101/gad.11.14.1812.
76. Ohlweiler, L.; ROTTA, N.T. *Prematuridade: importância do seguimento neurológico*. Revista HCPA. Porto Alegre. Vol. 23, n. 3 (set. 2003), p. 9-16, 2003.
77. Oliveira, Lúcio H., Xavier, César C. e Lana, Ana M.A. *Alterações morfológicas placentárias de recém-nascidos pequenos para a idade gestacional*. Jornal de Pediatria, 2002, v. 78, n. 5. ISSN 1678-4782. DOI: 10.1590/S0021-75572002000500010.
78. Ortega, F.L. *Biomarcadores teciduais e urinários diagnósticos e preditores de agressividade do câncer de próstata*. Orientador: Leite, K.R.M. 2019. 135 p. Dissertação (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.
79. Oskovi Kaplan ZA, Ozgu-Erdinc AS. *Prediction of preterm birth: maternal characteristics, ultrasound markers, and biomarkers: an updated overview*. Journal of pregnancy. 2018 Oct 10;2018.
80. Patella S, Phillips DJ, Tchongue J, de Kretser DM, Sievert W. *Follistatin attenuates early liver fibrosis: effects on hepatic stellate cell activation and hepatocyte apoptosis*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 290: G137–G144, 2006. doi:10.1152/ajpgi.00080.2005.
81. Pérez-Ibave, D.C.; Burciaga-Flores, C.H.; Elizondo-Riojas, M.A. *Prostate-specific antigen (PSA) as a possible biomarker in non-prostatic cancer: A review*. Cancer Epidemiology, Volume 54, 2018, Pages 48-55, ISSN 1877-7821. DOI: 10.1016/j.canep.2018.03.009.
82. Petraglia, F.; Florio, P.; Luisi, S.; Gallo, R.; Gadducci, A.; Viganò, P.; Di Blasio, A.M.; Genazzani, A.R.; Vale, W. *Expression and Secretion of Inhibin and Activin*

- in Normal and Neoplastic Uterine Tissues. High Levels of Serum Activin A in Women with Endometrial and Cervical Carcinoma.* The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, Volume 83, Issue 4, 1 April 1998, Pages 1194–1200. DOI: 10.1210/jcem.83.4.4689.
83. Pijnenborg, R., Vercruyssen, L., & Carter, A. (2010). *Trophoblast invasion and uterine artery remodelling in primates.* In G. Burton, D. Barker, A. Moffett, & K. Thornburg (Eds.), *The Placenta and Human Developmental Programming* (pp. 92-101). Cambridge: Cambridge University Press. DOI:10.1017/CBO9780511933806.009.
84. Portela, A., Esteller, M. *Epigenetic modifications and human disease.* Nat Biotechnol **28**, 1057–1068 (2010). DOI: 10.1038/nbt.1685
85. Prakash, Alka & Laird, Susan & Tuckerman, Elizabeth & Li, Tin & Ledger, William. (2005). *Inhibin A and activin A may be used to predict pregnancy outcome in women with recurrent miscarriage.* Fertility and sterility. 83. 1758-63. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2004.11.072.
86. Prefumo, F.; Ganapathy, R.; Thilaganathan, B.; Sebire, N.J. *Influence of parity on first trimester endovascular trophoblast invasion,* Fertility and Sterility, Volume 85, Issue 4, 2006, Pages 1032-1036, ISSN 0015-0282, DOI: 10.1016/j.fertnstert.2005.09.055.
87. Prieto-Gómez, R. *et al. Interacción Endometrio Trofoblasto, en la Implantación Humana: Revisión de la Literatura.* Int. J. Morphol., Temuco, v. 37, n. 2, p. 397-405, jun. 2019. Disponível em: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022019000200397&lng=es&nrm=iso>. Acesso em: 20 de dezembro 2021. DOI: 10.4067/S0717-95022019000200397.
88. Publications Committee, Society for Maternal-Fetal Medicine, Belfort MA. *Placenta accreta.* Am J Obstet Gynecol. 2010 Nov;203(5):430-9. DOI: 10.1016/j.ajog.2010.09.013. PMID: 21055510.
89. Ramsey PS, Andrews WW. *Biochemical predictors of preterm labor: fetal fibronectin and salivary estriol.* Clinics in perinatology. 2003 Dec 1;30(4):701-33. DOI:[https://doi.org/10.1016/S0095-5108\(03\)00109-X](https://doi.org/10.1016/S0095-5108(03)00109-X).
90. Rätsep MT, Felker AM, Kay VR, Toluoso L, Hofmann AP, Croy BA. *Uterine natural killer cells: supervisors of vasculature construction in early decidua basalis.* Reproduction. 2015 Feb 1;149(2):R91-102.

91. Ray P, Manach YL, Riou B, Houle TT, Warner DS. *Statistical evaluation of a biomarker*. The Journal of the American Society of Anesthesiologists. 2010 Apr 1;112(4):1023-40.
92. Rausch ME, Sammel MD, Takacs P, Chung K, Shaunik A, Barnhart KT. *Development of a multiple marker test for ectopic pregnancy*. Obstet Gynecol 117: 573–582, 2011. DOI:10.1097/AOG.0b013e31820b3c61.
93. Red-Horse K, Zhou Y, Genbacev O, Prakobphol A, Foulk R, McMaster M, Fisher SJ. *Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface*. J Clin Invest. 2004 Sep;114(6):744-54. DOI: 10.1172/JCI22991.
94. Redman, C.W.G.; Sacks, G.P.; Sargent, I.L. *Preeclampsia: An excessive maternal inflammatory response to pregnancy*, American Journal of Obstetrics and Gynecology, Volume 180, Issue 2, 1999, Pages 499-506, ISSN 0002-9378. DOI: 10.1016/S0002-9378(99)70239-5.
95. Refaat, B., and A. O. Bahathiq. 2020. *The performances of serum activins and follistatin in the diagnosis of ectopic pregnancy: A prospective case-control study*. Clínica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry 500:69–74. DOI:10.1016/j.cca.2019.09.019.
96. Reginatto CJ, Subtil VM, Rodrigues LV, Valenti VE, de Abreu LC, Gomes RL, Petenusso M. *Impacto do diabetes mellitus gestacional sobre a massa placentária humana*. ABCS Health Sciences. 2016, 41.
97. Reis FM, Luisi S, Abrão MS, Rocha AL, Viganò P, Rezende CP, Florio P, Petraglia F. *Diagnostic value of serum activin A and follistatin levels in women with peritoneal, ovarian and deep infiltrating endometriosis*. Hum Reprod. 2012 May;27(5):1445-50. DOI: 10.1093/humrep/des055. Epub 2012 Mar 12. PMID: 22416010.
98. Relizani K, Mouisel E, Giannesini B, Hourdé C, Patel K, Morales Gonzalez S, Jülich K, Vignaud A, Piétri-Rouxel F, Fortin D, Garcia L, Blot S, Ritvos O, Bendahan D, Ferry A, Ventura-Clapier R, Schuelke M, Amthor H. *Blockade of ActRIIB signaling triggers muscle fatigability and metabolic myopathy*. Mol Ther 22: 1423–1433, 2014. doi:10. 1038/mt.2014.90.
99. Renaud, S.J.; Scott, R.L.; Chakraborty, D; Rumi, M.A.K.; Soares, M.J. *Natural killer-cell deficiency alters placental development in rats*, Biology of

- Reproduction, Volume 96, Issue 1, January 2017, Pages 145–158, DOI: 10.1095/biolreprod.116.142752.
100. Rolim, D.E. *Alterações anatomopatológicas da placenta e relação com desfechos gestacionais*. Orientador: Silveira, D.A. 2021. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em medicina) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Passo Fundo, 2021. p. 66.
101. Rölle A, Pollmann J, Cerwenka A. *Memory of infections: an emerging role for natural killer cells*. PLoS pathogens. 2013 Sep 26;9(9):e1003548.
102. Rosenberg, V. A., I. A. Buhimschi, A. T. Dulay, S. S. Abdel-Razeq, E. A. Oliver, C. M. Duzyj, H. Lipkind, C. M. Pettker, and C. S. Buhimschi. 2012. *Modulation of amniotic fluid activin-a and inhibin-a in women with preterm premature rupture of the membranes and infection-induced preterm birth*. American Journal of Reproductive Immunology (New York, N.Y.: 1989) 67:122–31. DOI:10.1111/j.1600-0897.2011.01074.x.
103. Salge, Ana Karina Marques et al. *Relationship between clinical, placental, obstetric and neonatal aspects and intrauterine growth in high risk pregnancies*. Texto & Contexto – Enfermagem. DOI: 10.1590/0104-07072017005520015.
104. Santos, A.O. *IL-1B urinário como biomarcador de sepse neonatal em pré-termos*. Orientador: Goulart Filho, L.R. 2017. Dissertação (Mestrado em ciências da saúde) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017. p. 77.
105. Sarafana, S.; Coelho, R.; Neves, A.; Trindade, J. C. *Aspectos da Imunologia da gravidez*. Unidade de Imunoalergologia pediátrica. Hospital Santa Maria. Lisboa. Acta Med Port 2007; 20: 355 – 358.
106. Shah, P. S. 2010. *Parity and low birth weight and preterm birth: A systematic review and meta-analyses*. Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica 89:862–75. DOI:10.3109/00016349.2010.486827.
107. Smith, R.; Smith, J.I.; Shen, X.; Engel, P.J.; Bowman, M.E.; McGrath, S.A; Bisits, A.M.; McElduff, P.; Giles, W.B.; Smith, D.W. *Patterns of Plasma Corticotropin-Releasing Hormone, Progesterone, Estradiol, and Estriol Change and the Onset of Human Labor*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, Volume 94, Issue 6, 1 June 2009, Pages 2066–2074, DOI: 10.1210/jc.2008-2257.

108. Spencer K, Cowans NJ, Nicolaides KH. *Maternal serum inhibin-A and activin-A levels in the first trimester of pregnancies developing pre-eclampsia*. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2008 Oct;32(5):622-6.
109. Srougi, V. *Análise de um painel de biomarcadores urinários para identificar e prever recidivas de carcinoma urotelial superficial da bexiga*. Orientador: Nahas, W.C. 2018. 73 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.
110. Sugimoto, Michelle & Vago, Juliana Priscila & Perretti, Mauro & Teixeira, Mauro. (2019). *Mediators of the Resolution of the Inflammatory Response*. *Trends in Immunology*. DOI: 40. 10.1016/j.it.2019.01.007.
111. Sun, J.C. and Lanier, L.L. (2009), *Natural killer cells remember: An evolutionary bridge between innate and adaptive immunity?* *Eur. J. Immunol.*, 39: 2059-2064. DOI:10.1002/eji.200939435.
112. Totsuka Y, Tabuchi M, Kojima I, Shibai H, Ogata E. *A novel action of activin A: stimulation of insulin secretion in rat pancreatic islets*. *Biochem Biophys Res Commun* 156: 335–339, 1988. doi:10.1016/S0006-291X(88)80845-3.
113. Tu'uhevaha J. Kaitu'u-Lino, David J. Phillips, Naomi B. Morison, Lois A. Salamonsen, *A New Role for Activin in Endometrial Repair after Menses*. *Endocrinology*, Volume 150, Issue 4, 1 April 2009, Pages 1904–1911. DOI: 10.1210/en.2008-0738.
114. Tuuri, T., M. Eramaa, K. Hilden, and O. Ritvos. 1994. *The tissue distribution of activin beta A- and beta B-subunit and follistatin messenger ribonucleic acids suggests multiple sites of action for the activin-follistatin system during human development*. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 78:1521–24. DOI:10.1210/jcem.78.6.8200957.
115. Urness LD, Sorensen LK, Li DY. *Arteriovenous malformations in mice lacking activin receptor-like kinase-1*. *Nat Genet* 26: 328 –331, 2000. doi:10.1038/81634.
116. Watanabe, Maria & Garcia, Ellen & Carvalho, Giovana & Matsubara, Natália & Ferreira, Ana & Ghabdan Zanluqui, Nagela & Oliveira, Gabriela.

- (2014). *Gestação: Um desafio imunológico*. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde. 35. 147. DOI: 10.5433/1679-0367.2014v35n2p147.
117. Wijayarathna R, de Kretser DM. *Activins in reproductive biology and beyond*. Hum Reprod Update 22: 342–357, 2016. DOI:10.1093/humupd/dmv058.
118. World Health Organization. *Training Manual for Enzyme Linked Immunosorbent Assay for the Quantitation of Streptococcus Pneumoniae Serotype Specific IgG (Pn PS ELISA). A Guide to Procedures for Qualification of Materials and Analysis of Assay Performance* Geneva. Switzerland: World Health Organization; (2004). Acesso em 20 Dez 2021. Disponível em: <https://ww3.icb.usp.br/wp-content/uploads/2020/10/PROTOCOLO-ELISA.pdf>.
119. Xu G, He J, Guo H, Mei C, Wang J, Li Z, Chen H, Mang J, Yang H, Xu Z. *Activin A prevents neuron-like PC12 cell apoptosis after oxygen-glucose deprivation*. Neural Regen Res 8: 1016 –1024, 2013. doi:10.3969/j.issn.1673-5374.2013.11.007.
120. Yaden BC, Wang YX, Wilson JM, Culver AE, Milner A, Datta-Mannan A, Shetler P, Croy JE, Dai G, Krishnan V. *Inhibition of activin A ameliorates skeletal muscle injury and rescues contractile properties by inducing efficient remodeling in female mice*. Am J Pathol 184: 1152–1166, 2014. doi:10.1016/j.ajpath.2013.12.029.
121. Yu J, Shixia CZ, Wu Y, Duan T. *Inhibin A, activin A, placental growth factor and uterine artery Doppler pulsatility index in the prediction of pre-eclampsia*. Ultrasound in obstetrics & gynecology. 2011 May;37(5):528-33.
122. Zen, M., S. Padmanabhan, K. Zhang, A. Kirby, N. W. Cheung, V. W. Lee, and T. I. Alahakoon. 2020. *Urinary and serum angiogenic markers in women with preexisting diabetes during pregnancy and their role in preeclampsia prediction*. Diabetes Care 43:67–73. DOI:10.2337/dc19-0967.
123. Zhao J, Lee M, Smith S, Warburton D. *Abrogation of Smad3 and Smad2 or of Smad4 gene expression positively regulates murine embryonic lung branching morphogenesis in culture*. Dev Biol 194: 182–195, 1998. doi:10.1006/dbio.1997.8825.
124. Zhu, S., Z. Li, L. Cui, Y. Ban, P. C. K. Leung, Y. Li, and J. Ma. 2020. *Activin A increases human trophoblast invasion by upregulating integrin β 1*

through ALK4. FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. DOI:10.1096/fj.202001604R

125. Zugaib, M. **Obstetrícia**. 4. ed. Barueri: Manole, 2019. 1424 p. ISBN 9788520459881.

9. ANEXOS

9.1 ANEXO 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
MARCADORES ENDÓCRINOS DA GESTAÇÃO DE ALTO RISCO:
ESTUDO PROSPECTIVO

Prezada Senhora,

Gostaríamos de convidá-la a participar de um estudo científico sobre novos exames de sangue e de urina que, esperamos, possam identificar com antecedência as gestações com maior risco de nascimento prematuro e/ou pré-eclâmpsia.

I. DETALHES SOBRE A PESQUISA

Serão colhidas amostras de sangue e urina das gestantes no dia da consulta de pré-natal com idade gestacional de 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 38 e 40 semanas. Durante o trabalho de parto e após o parto também serão obtidas amostras de seu sangue. No momento do parto será coletada amostra do líquido amniótico. Após o nascimento do seu filho e o corte do cordão umbilical, coletaremos também sangue da parte do cordão que permanece ligada à placenta. Além dessas amostras serão retirados também pequenos fragmentos (pedaços) da placenta, membranas e cordão umbilical.

I. SIGILO DOS DADOS

Todos os seus dados serão confidenciais, sua identidade não será revelada publicamente em hipótese alguma e somente os pesquisadores envolvidos neste projeto terão acesso a essas informações, que serão utilizadas somente para fins de pesquisa.

II. BENEFÍCIOS DA PESQUISA

Este estudo trará informações que poderão beneficiar muitas mulheres no futuro. O conhecimento de algumas alterações hormonais associadas a complicações da gravidez poderá ajudar no desenvolvimento de novos métodos para prevenir e tratar essas complicações.

III. RISCOS

A coleta de amostras de sangue periférico (10 ml, volume equivalente a duas colheres de sopa) pode causar pequeno desconforto no local da coleta e, eventualmente, uma pequena mancha (hematoma) que desaparece naturalmente. O sangue será colhido em material inteiramente estéril e descartável, que não oferece risco para a sua saúde.

A coleta do líquido amniótico no momento do parto não apresenta riscos e será feita por meio de aspiração com seringa estéril.

O sangue que vai ser coletado do cordão umbilical após o parto também não acarreta riscos pois será feito no segmento que fica ligado à placenta.

Os fragmentos retirados da placenta, membranas e cordão umbilical são pequenos e não prejudicam o exame anátomo-patológico da placenta.

IV. RESSARCIMENTO DAS DESPESAS

Não está prevista qualquer forma de remuneração para as voluntárias, nem ressarcimento de despesas. Entretanto, as despesas específicas relacionadas com o estudo são de responsabilidade dos pesquisadores.

V. DEMAIS ESCLARECIMENTOS

Você dispõe de total liberdade para esclarecer qualquer dúvida que possa surgir durante a pesquisa. Você poderá recusar-se a participar deste estudo e/ou abandoná-lo a qualquer momento, sem precisar se justificar. A aceitação ou não da participação neste estudo não influenciará no seu tratamento.

VI. TERMO DE CONSENTIMENTO

Eu, _____ voluntariamente, concordo em me submeter a exames de sangue e urina e a ceder pequenas amostras de placenta e anexos para pesquisa no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Estou ciente do exposto acima e ainda de que esta pesquisa não trará qualquer prejuízo à minha saúde.

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____

Assinatura da voluntária

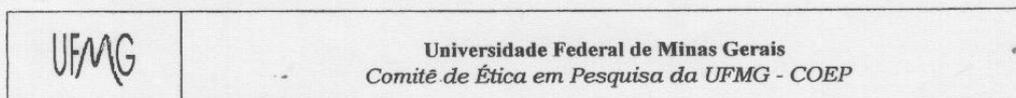
Telefones para contato:

3409-9421 - Profª. Regina A. L. P. Aguiar

3409-9484 - Prof. Fernando M. Reis

3409- 4592 – Comitê de Ética em Pesquisa – UFMG (Av. Antônio Carlos 66.270 – Unidade Administrativa II – 2º andar – sala 2005

9.2 ANEXO 2 – Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)



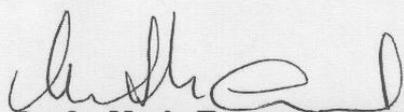
Parecer nº. ETIC 549/07

**Interessado(a): Profa. Regina Amélia Lopes Pessoa Aguiar
Departamento de Ginecologia e Obstetria
Faculdade de Medicina-UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 18 de dezembro de 2007, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "**Marcadores endócrinos da gestação de alto risco: estudo prospectivo**" 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.


Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG