

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Faculdade de Farmácia

Programa De Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas

Isabella Macedo Costa

**PRÉ-ECLÂMPsia E RISCOS LATENTES APÓS O PARTO (ESTUDO
PERLA-BRASIL): Biomarcadores do metabolismo lipídico em mulheres
com histórico de pré-eclâmpsia**

Belo Horizonte

2025

Isabella Macedo Costa

**PRÉ-ECLÂMPsia E RISCOS LATENTES APÓS O PARTO (ESTUDO
PERLA-BRASIL): Biomarcadores do metabolismo lipídico em mulheres
com histórico de pré-eclâmpsia**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau Mestre em Análises Clínicas e Toxicológicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Patrícia Nessralla Alpoim.

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Cláudia Natália Ferreira.

Belo Horizonte

2025

C837p Costa, Isabella Macedo.
Pré-eclâmpsia e riscos latentes após o parto (estudo PERLA-Brasil) [recurso eletrônico] : biomarcadores do metabolismo lipídico em mulheres com histórico de pré-eclâmpsia / Isabella Macedo Costa. – 2025.
1 recurso eletrônico (175 f. : il.) : pdf

Orientadora: Patrícia Nessralla Alpoim.
Coorientadora: Cláudia Natália Ferreira.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Pré-eclâmpsia – Teses. 2. Dislipidemias – Teses. 3. Aterosclerose – Teses. 4. Fatores de risco de doenças cardíacas – Teses. 5. Mortalidade materna – Teses. I. Alpoim, Patrícia Nessralla. II. Ferreira, Cláudia Natália. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD: 618.3



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
COLEGIADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS E
TOXICOLÓGICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

**"PRÉ-ECLÂMPSIA E RISCOS LATENTES APÓS O PARTO (ESTUDO PERLA-BRASIL):
Biomarcadores do metabolismo lipídico em mulheres com histórico de pré-eclâmpsia"**

ISABELLA MACEDO COSTA

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia vinte e quatro de fevereiro de dois mil e vinte e cinco, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores:

Profa. Flávia Ribeiro de Oliveira
UFMG

Profa. Lara Carvalho Godoi
UFMG

Profa. Claudia Natalia Ferreira
UFMG

Profa. Patricia Nessralla Alpoim - Orientadora
UFMG

Belo Horizonte, 24 de fevereiro de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Flávia Ribeiro de Oliveira, Professora do Magistério Superior**, em 24/02/2025, às 16:47, 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 **Patricia Nessralla Alpoim, Professora do Magistério Superior**, em 24/02/2025, às 17:59, 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 **Lara Carvalho Godoi, Professora Ensino Básico Técnico Tecnológico**, em 24/02/2025, às 18:02, 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 **Claudia Natalia Ferreira, Chefe de setor**, em 25/02/2025, às 19:20, 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 **3942765** e o código CRC **84BC0606**.

RESUMO

A pré-eclâmpsia (PE) é uma complicação gestacional associada a um maior risco cardiovascular a longo prazo. No entanto, os mecanismos que explicam essa associação ainda não são totalmente compreendidos. A dislipidemia e o índice de massa corporal (IMC) elevado são uns dos fatores que mais contribuem para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Embora a dislipidemia já tenha sido investigada em mulheres com histórico de PE para verificar possíveis disfunções que justifiquem o risco cardiovascular aumentado nesse grupo, os resultados são inconsistentes. Ainda não está estabelecido o momento ideal para iniciar a triagem de risco cardiovascular. A PCSK9, uma proteína que regula os níveis de LDL no plasma, desempenha um papel crucial nesse contexto. O aumento dos níveis de PCSK9 pode comprometer a remoção da LDL da circulação, contribuindo para o aumento dos níveis plasmáticos de LDLc. Dada a possibilidade de alterações da PCSK9 antes da manifestação dos sintomas clínicos, este estudo teve como objetivo investigar os níveis de PCSK9 e seu papel no metabolismo lipídico em mulheres com histórico de PE e comparar com mulheres com histórico de gestação normotensa. Trata-se de um estudo de coorte retrospectivo envolvendo 205 mulheres, das quais 103 apresentaram histórico de PE e 102 apresentaram histórico de gestações normotensas. O perfil lipídico e os níveis plasmáticos de PCSK9 foram avaliados por métodos laboratoriais padronizados. Além disso, foram avaliadas as características físicas (peso, IMC, percentual de gordura, pressão arterial e circunferências de cintura e quadril) e a frequência de condições crônicas (diabetes, hipercolesterolemia, hipertensão crônica e síndrome metabólica). Os resultados indicaram que as mulheres com histórico de PE apresentaram níveis reduzidos de PCSK9 ($p<0,001$) e níveis elevados de LDLc ($p<0,001$), em comparação às mulheres com histórico de gestações normotensas. Além disso, as mulheres com histórico de PE apresentaram valores aumentados para IMC ($p=0,004$), percentual de gordura ($p=0,008$), pressão arterial sistólica ($p<0,001$), pressão arterial diastólica ($p<0,001$) e circunferência de cintura ($p=0,007$). Observou-se também maior frequência de hipertensão crônica ($p<0,001$) e síndrome metabólica ($p=0,027$) em mulheres com histórico de PE. Considerando que essas alterações são preditivas de DCV, fica evidente a necessidade do acompanhamento periódico dos parâmetros avaliados nesse estudo, nas mulheres que tiveram PE. Mudanças no estilo de vida visando reduzir o risco de DCV, das mulheres que tiveram PE, são recomendadas precocemente.

Palavras-chave: Pré-eclâmpsia; PCSK9; perfil lipídico; dislipidemia; aterosclerose; risco cardiovascular; mortalidade materna.

ABSTRACT

Preeclampsia (PE) is a gestational complication associated with an increased long-term cardiovascular risk. However, the mechanisms underlying this association are not yet fully understood. Dyslipidemia and elevated body mass index (BMI) are among the most significant contributors to the development of cardiovascular diseases. Although dyslipidemia has been previously investigated in women with a history of PE to identify potential dysfunctions explaining the increased cardiovascular risk in this group, the results are inconsistent, and the optimal timing to initiate cardiovascular risk screening remains uncertain. PCSK9, a protein that regulates plasma LDL levels, plays a crucial role in this context. Increased PCSK9 levels can impair LDL clearance from circulation, contributing to increased plasma LDL cholesterol levels. Given the possibility of PCSK9 alterations preceding clinical symptom onset, this study aimed to investigate PCSK9 levels and their role in lipid metabolism in women with a history of PE compared to women with a history of normotensive pregnancies. This retrospective cohort study included 205 women, of whom 103 had a history of PE, and 102 had a history of normotensive pregnancies. Lipid profiles and plasma PCSK9 levels were analyzed using standardized laboratory methods. Additionally, physical characteristics (weight, BMI, fat percentage, blood pressure, and waist and hip circumferences) and the frequency of chronic conditions (diabetes, hypercholesterolemia, chronic hypertension, and metabolic syndrome) were evaluated. The results indicated that women with a history of PE had lower PCSK9 levels ($p<0.001$) and higher LDL cholesterol levels ($p<0.001$) compared to women with a history of normotensive pregnancies. Moreover, women with a history of PE exhibited higher BMI ($p=0.004$), fat percentage ($p=0.008$), systolic blood pressure ($p<0.001$), diastolic blood pressure ($p<0.001$), and waist circumference ($p=0.007$). A higher frequency of chronic hypertension ($p<0.001$) and metabolic syndrome ($p=0.027$) was also observed in women with a history of PE. In summary, these characteristics are predictive of CVD and highlight the need for periodic follow-up of women after PE. Lifestyle modifications aimed at reducing CVD risk should be implemented earlier in the postpartum period for women who have experienced PE.

Keywords: preeclampsia; lipid profile; dyslipidemia; atherosclerosis; cardiovascular risk; maternal mortality; PCSK9.

LISTA DE FIGURAS E FLUXOGRAMAS

Figura 1 – Remodelação das artérias espirais na gravidez saudável e na PE.

Figure 1 (Capítulo 1) – Process of constructing the population of Brazilian Cohort Study Preeclampsia and Latent Risks After Delivery (PERLA-Brasil), 2022-2023

Figura 2 – Tipos e estruturas das lipoproteínas

Figura 3 – Ciclo exógeno e endógeno do colesterol

Figura 4 – Fisiopatologia da aterosclerose

Figura 5 – Pré-eclâmpsia e doenças cardiovasculares

Figura 6 – Processamento do pré-proPCSK9 levando à forma madura clivada da PCSK9

Figura 7 – Esquema da interação entre PCSK9 e LDL-R em um hepatócito

Figura 8 – Delineamento experimental do estudo

Figura 9 – Recrutamento e seleção das participantes

Figura 10 – Curvas de calibração do ensaio de dosagem da PCSK9

Supplementary Figure S1 (Capítulo 2) – Flowcharts illustrating the construction of study population.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Níveis de PCSK9 em mulheres com histórico de pré-eclâmpsia (MP) e mulheres com histórico de gestação normotensa (MN)

Table 1 (Capítulo 1) – Components of Interviews in Brazilian Cohort Study Preeclampsia and Latent Risks After Delivery (PERLA-Brasil), 2022-2023

Table 1 (Capítulo 2) – Demographics and obstetrics data

Tabela 2 – Níveis de PCSK9 em mulheres que usam estatinas e mulheres que não usam estatinas

Table 2 (Capítulo 1) – Components of Baseline Laboratory Measurements in Brazilian Cohort Study Preeclampsia and Latent Risks After Delivery (PERLA-Brasil), 2022-2023

Table 2 (Capítulo 2) – Current participant data (N=188)

Table 3 (Capítulo 2) – Biochemical features of women at the recruitment moment

Supplementary Table 1 (Capítulo 2) – Severity criteria

Supplementary Table 2 (Capítulo 2) – Linear regression analysis considering SBP, DBP, MBP, and LDLc as dependent variables.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 (APÊNDICE III) – Incubações overnight 20°C versus 4°C

Gráfico 2 (APÊNDICE III) – Diferentes diluições do Pool PERLA e Amostra 1 (A1)

Gráfico 3 (APÊNDICE III) – Diferentes diluições do anticorpo de captura e da amostra

Gráfico 4 (APÊNDICE III) – Absorbâncias obtidas utilizando a concentração de 500 ng/mL do anticorpo de captura e 25 ng/mL do anticorpo de detecção

Gráfico 5 (APÊNDICE III) – Absorbâncias obtidas incubando a amostra na estufa por 1 hora

Gráfico 6 (APÊNDICE III) – Absorbâncias obtidas incubando as amostras e o anticorpo de detecção na estufa por 1 hora

Gráfico 7 (APÊNDICE III) – Absorbâncias obtidas incubando as amostras e o anticorpo de detecção na estufa por 1 hora em duas condições de diluição dos anticorpos de captura e de detecção

Gráfico 8 (APÊNDICE III) – Curva de calibração obtida utilizando a diluição 1:1 dos anticorpos de captura e de detecção

Gráfico 9 (APÊNDICE III) – Curva de calibração obtida utilizando a diluição 1:2 dos anticorpos de captura e de detecção

Gráfico 10 (APÊNDICE III) – Absorbâncias das amostras obtidas utilizando diferentes concentrações dos anticorpos de captura e de detecção

Gráfico 11 (APÊNDICE III) – Curva de calibração obtida utilizando a diluição a diluição 1:1 dos anticorpos de captura e de detecção

Gráfico 12 (APÊNDICE III) – Curva de calibração obtida utilizando a diluição a diluição 1:2 dos anticorpos de captura e de detecção

Gráfico 13 (APÊNDICE III) – Absorbâncias das amostras obtidas utilizando diferentes concentrações dos anticorpos de captura e de detecção

Gráfico 14 (APÊNDICE III) – Curva de calibração obtida seguindo o protocolo do fabricante

Gráfico 15 (APÊNDICE III) – Curva de calibração obtida incubando as amostras e anticorpo de detecção na estufa por 1 hora e a estreptavidina-HRP na estufa por 20 minutos

Gráfico 16 (APÊNDICE III) – Absorbâncias das amostras em diferentes diluições, comparando o protocolo do fabricante versus a incubação da amostra e do anticorpo de detecção por 1 hora na estufa e da incubação da estreptavidina-HRP por 20 minutos na estufa

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC	<i>American College of Cardiology</i>
ACOG	<i>American College of Obstetricians and Gynecologists</i>
AGL	Ácidos Graxos Livres
AHA	<i>American Heart Association</i>
Apo	Apolipoproteína
ApoB-100	Apolipoproteína B-100
ApoE	Apolipoproteína E
apoE-R2	Receptor de Apolipoproteína E 2
AVE	Acidente Vascular Encefálico
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CD36	Cluster de Diferenciação 36
CDL40L	Ligante de CD40
CETP	Proteína de Transferência de Éster de Colesterol
CT	Colesterol Total
CXCL2	Ligante Quimosina CXC 2
DCV	Doença Cardiovascular
DCVA	Doença Cardiovascular Aterosclerótica
FAFAR	Faculdade de Farmácia
FHEMIG	Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais
HAC	Hipertensão Arterial Crônica
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
HDLc	Colesterol da Lipoproteína de Alta Densidade

HELLP	Hemólise, Enzimas Hepáticas Elevadas e Baixa Contagem de Plaquetas
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
ICAM-1	Molécula de Adesão Intercelular 1
IDL	Lipoproteína de Densidade Intermediária
IL-1 β	Interleucina 1 Beta
IL-2	Interleucina 2
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IMC	Índice de Massa Corporal
ISSHP	<i>International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy</i>
LCAT	Lecitina Colesterol Acetiltransferase
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LDLc	Colesterol da Lipoproteína de Baixa Densidade
LDL-R	Receptor de Lipoproteína de Baixa Densidade
Lp(a)	Lipoproteína (a)
LRP1	Proteína-1 Relacionada ao LDL-R
LAS	Lúpus Eritematoso Sistêmico
M-CSF	Fator Estimulador de Colônias de Macrófagos
MAPK	Proteína Quinase Ativada por Mitógeno
MCP-1	Proteína Quimioatraente de Monócitos 1
MCP-2	Proteína Quimioatraente de Monócitos 2
mmHg	Milímetros de Mercúrio
NF- κ B	Fator Nuclear kappa B

não-HDL	Não-Proteína de Alta Densidade
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAM	Pressão Arterial Média
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PCSK9	Proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9
PE	Pré-eclâmpsia
PS	Peptídeo Sinal
SAF	Síndrome de Anticorpos Antifosfolípideo
sFlt-1/PlGF	Fator Solúvel de Tirosina Quinase-1/Fator de Crescimento Placentário
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SR-B1	Receptor de Classe B Tipo 1
SREBP	Proteína de ligação a elemento regulador de esterol
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG	Triglicerídeos
TGF- β	Fator de Crescimento Transformador Beta
TLR4	<i>Toll-Like Receptor 4</i>
TNF	Fator de Necrose Tumoral
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VCAM-1	Molécula de Adesão Celular Vascular-1
VLDL	Lipoproteína de Densidade Muito Baixa
VLDL-R	Receptor de Lipoproteína de Muito Baixa Densidade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1. Pré-eclâmpsia	18
2.1.1. Definição.....	18
2.1.1.1. Classificações.....	19
2.1.2. Fatores de risco.....	19
2.1.3. Profilaxia e manejo.....	20
2.1.4. Fisiopatologia	21
2.1.5. Prevalência e repercussões maternas	23
2.2. Lipoproteínas.....	24
2.2.1. Metabolismo das lipoproteínas.....	26
2.3. Dislipidemia e aterosclerose	28
2.3.1. Histórico de pré-eclâmpsia e risco de dislipidemia e aterosclerose.....	31
2.4. Doenças Cardiovasculares.....	32
2.4.1. Histórico de pré-eclâmpsia e risco de doenças Cardiovasculares.....	33
2.4.2. Manejo do risco e predição de doenças cardiovasculares após a pré-eclâmpsia	34
2.5. Pró-proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9 (PCSK9)	36
2.5.1. Características da PCSK9	36
2.5.2. Interação da PCSK9 no metabolismo do LDLc	39
2.5.3. Efeitos pleiotrópicos da PCSK9.....	41
2.5.4. PCSK9 e pré-eclâmpsia	43
2.5.5. PCSK9 e risco de doenças cardiovasculares	44
3 OBJETIVOS.....	47
3.1. Objetivo Geral.....	47
3.2. Objetivos Específicos	47
4 MATERIAIS E MÉTODOS	48

4.1. Delineamento experimental	48
4.2. Aspectos éticos	48
4.3. Casuística	49
4.3.1. Critérios de inclusão	50
4.3.2. Critérios de exclusão	51
4.4. Tamanho amostral	51
4.5. Coleta de dados e avaliação física	52
4.6. Amostra biológica: coleta e armazenamento	52
4.7. Avaliação do perfil lipídico	53
4.7.1. Determinação do colesterol total	53
4.7.2. Determinação do colesterol HDL	53
4.7.3. Determinação do colesterol LDL	54
4.7.4. Determinação dos triglicérides	54
4.7.5. Determinação do colesterol e colesterol não-HDL	55
4.8. Avaliação do metabolismo lipídico	55
4.8.1. Desenvolvimento do protocolo de ELISA para detecção da PCSK9	55
4.8.2. Determinação da concentração da PCSK9	55
4.8.2.1. <i>Sensibilização e bloqueio da microplaca</i>	55
4.8.2.2. <i>Realização do ensaio</i>	56
4.9. Análises estatísticas	58
4 CAPÍTULO 1	59
5 CAPÍTULO 2	75
6 CAPÍTULO 3	101
7 CONCLUSÃO	105
8 LIMITAÇÕES	106
9 PERSPECTIVAS	107
REFERÊNCIAS	108
APÊNDICE I – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	127

APÊNDICE II – FICHA DE AVALIAÇÃO CLÍNICA	131
APÊNDICE III – DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO DE ELISA	134
ANEXO I – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP – UFMG	150
ANEXO II – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP – FHEMIG	154
ANEXO III – PRODUÇÕES DO MESTRADO	159

1. INTRODUÇÃO

A pré-eclâmpsia (PE) é uma síndrome gestacional que representa uma das principais causas de morbidade e mortalidade materna em todo o mundo (ACOG, 2019). Caracteriza-se pelo aparecimento de hipertensão e/ou proteinúria, a partir da vigésima semana de gestação, além de outros sinais e sintomas que indicam comprometimento sistêmico (ACOG, 2019). A condição não só compromete a saúde da gestante, mas também está associada a um aumento do risco de complicações a longo prazo, incluindo doenças cardiovasculares (DCV) (AHA, 2017). No entanto, os aspectos fisiopatológicos da via comum entre PE e DCV ainda não estão claros (Shaw *et al.*, 2024). Dessa forma, a compreensão das vias subjacentes à PE e DCV é crucial para o desenvolvimento de estratégias de prevenção e manejo que possam mitigar as consequências da PE na saúde materna.

O metabolismo lipídico é uma área de pesquisa ativa e em expansão no contexto pós-PE, uma vez que a dislipidemia, caracterizada por níveis anormais de lipídios no sangue, é, frequentemente, observada em mulheres com histórico de PE (Hauge *et al.*, 2022; Henry *et al.*, 2024; Hermes *et al.*, 2012; Zoet *et al.*, 2015). Essa condição, por sua vez, é um fator de risco bem estabelecido para o desenvolvimento de aterosclerose e outras DCV (ACC e AHA, 2019).

Neste cenário, a proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9) emerge como um elemento relevante envolvido no metabolismo do colesterol. A PCSK9 promove a degradação do receptor de LDL (LDL-R), o qual é o principal responsável pela eliminação do colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDLc) (Steinberg e Witztum, 2009). Logo, é esperado que o aumento nos níveis da PCSK9 resulte na elevação da concentração plasmática de LDLc, contribuindo para um maior risco de DCV.

Além disso, níveis elevados da PCSK9 têm sido associada à progressão da aterosclerose, tanto de forma indireta, ao elevar os níveis de lipídios plasmáticos, quanto de forma direta, ao promover a inflamação, disfunção endotelial e a maior atividade plaquetária (Shapiro, Tavori e Fazio, 2018). Foi relatado uma relação positiva entre níveis elevados de PCSK9 e o aumento da espessura da artéria carótida, independentemente dos níveis plasmáticos de

LDLc (Xie *et al.*, 2016). Da mesma forma, a inibição da PCSK9 resultou na melhora da função endotelial em pacientes com e sem dislipidemia, sugerindo um efeito anti-inflamatório local (Leucker *et al.*, 2020). Além disso, a PCSK9 foi associada à maior reatividade plaquetária em pacientes com síndrome coronariana aguda (Navarese *et al.*, 2013).

Entretanto, até o momento, não foram realizados estudos que avaliaram a PCSK9 em mulheres com histórico de PE. Nos estudos disponíveis na literatura a determinação da PCSK9 foi feita durante a gestação de mulheres que desenvolveram PE e os resultados obtidos são conflitantes (Abbasifard *et al.*, 2023; Mennitti *et al.*, 2024; Vaught *et al.*, 2023). Isso reflete a complexidade do papel da PCSK9 e indica a necessidade de mais pesquisas para esclarecer os mecanismos subjacentes.

Diante do exposto, surgiram algumas indagações que nortearam este estudo, a saber:

- Como o perfil lipídico difere entre mulheres que tiveram PE em relação a mulheres que não tiveram PE, seis a 15 anos após o parto?
- Como a PCSK9 influencia o perfil lipídico nos grupos de indivíduos estudados?

Desta forma, acredita-se que o presente estudo fornecerá dados para uma melhor caracterização das mulheres com histórico de PE e poderá contribuir para:

- Um melhor entendimento sobre o metabolismo das lipoproteínas em mulheres com histórico de PE.
- Uma maior compreensão da relação entre PCSK9, perfil lipídico e risco cardiovascular em mulheres com histórico de PE.

Elucidar as vias que interrelacionam a PE e DCV é crucial para o desenvolvimento de estratégias de prevenção e manejo que possam mitigar as consequências da PE na saúde materna.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Pré-eclâmpsia

2.1.1. Definição

A PE é uma síndrome da gravidez associada ao aparecimento de hipertensão, que ocorre a partir da vigésima semana de gestação, acompanhada ou não de proteinúria. A hipertensão gestacional ocorre quando a pressão sistólica é igual ou maior que 140mmHg e a diastólica é igual ou maior que 90mmHg, medida em, no mínimo, duas ocasiões com intervalo de, pelo menos, quatro horas, após 20 semanas de gestação, em uma mulher com pressão arterial previamente normal. O aumento da pressão arterial para valores iguais ou superiores a 160 x 110 mmHg é considerado o critério diagnóstico de PE com sinais de gravidade. A proteinúria é caracterizada pela eliminação de 300mg de proteínas ou mais em amostra de urina de 24 horas ou pela relação proteína/creatinina de 0,3mg/dL ou mais ou pela leitura de duas cruzes de proteínas pelo método semiquantitativo de fita reagente (ACOG, 2019).

As mulheres que não apresentam proteinúria são diagnosticadas com PE por meio da identificação de pelo menos uma outra complicação associada, como trombocitopenia (concentração de plaquetas inferior a $100.000 \times 10^9/L$), função hepática prejudicada, indicada por aumento da atividade sérica de enzimas hepáticas (até duas vezes o limite superior da atividade normal); dor intensa e persistente no quadrante superior direito do abdômen ou dor epigástrica; insuficiência renal (concentração de creatinina sérica superior a 1,1mg/dL ou duplicação da concentração sérica de creatinina na ausência de doenças renais); edema pulmonar; dor de cabeça de início recente que não responde a medicamentos e distúrbios visuais. Além disso, a PE pode evoluir para outras condições clínicas mais sérias como eclâmpsia (convulsão), síndrome HELLP (hemólise, enzimas hepáticas elevadas e contagem reduzida de plaquetas), insuficiência renal, coagulação intravascular disseminada, descolamento prematuro da placenta, restrição de crescimento fetal, natimorto e morte materna (ACOG, 2019).

2.1.1.1. Classificações

A *International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy* (ISSHP) classifica a PE com base na idade gestacional do parto em PE pré-termo (parto antes de 37 semanas de gestação), PE a termo (parto a partir de 37 semanas de gestação) e PE pós-parto (diagnóstico após o parto) (Magee *et al.*, 2022).

Além dessa classificação, a PE pode ser subdividida em PE de início precoce (início dos sintomas ou parto antes de 34 semanas de gestação) e PE de início tardio (início dos sintomas ou parto durante ou a partir de 34 semanas de gestação) (Dimitriadis *et al.*, 2023).

Adicionalmente, a PE pode ser classificada de acordo com a gravidade dos sintomas em PE grave ($PA \geq 160/110$ mmHg e pelo menos uma outra complicação associada) e em PE leve ($PA \geq 140/90$ mmHg e pelo menos uma outra complicação associada) (Dimitriadis *et al.*, 2023). No entanto, as diretrizes da ISSHP (Brown *et al.*, 2018; Magee *et al.*, 2022) não recomendam o uso dessa classificação na prática clínica, uma vez que todas as mulheres com PE estão em risco de desenvolver complicações graves de forma rápida. Apesar disso, essa classificação ainda é utilizada em pesquisas.

2.1.2. Fatores de risco

Diversos fatores de risco têm sido associados ao aumento da probabilidade de PE como nuliparidade, gestação múltipla, PE em uma gravidez anterior, hipertensão crônica, diabetes pré-gestacional, diabetes gestacional, trombofilia, lúpus eritematoso sistêmico (LES), índice de massa corporal pré-gestacional superior a 30, síndrome de anticorpos antifosfolípídeo (SAF), idade materna igual ou maior que 35 anos, doença renal, tecnologia de reprodução assistida e apneia obstrutiva do sono (ACOG, 2019).

Contudo, individualmente, nenhum desses fatores possui forte poder preditivo para o risco de PE e, mesmo quando combinados, o poder preditivo permanece limitado (Elawad *et al.*, 2024). Nesse contexto, o estudo Doppler das artérias uterinas pode contribuir para a identificação não invasiva da isquemia placentária (ACOG, 2019). Além disso, a razão sFlt-1/PIGF (Fator Solúvel de

Tirosina Quinase-1/Fator de Crescimento Placentário) como indicador de disfunção placentária tem sido amplamente estudada, mas ainda não é comum na prática clínica (Barton *et al.*, 2020; Ignacio Herraiz *et al.*, 2018; I. Herraiz *et al.*, 2018; Sovio *et al.*, 2021).

Ressalta-se também que a maioria dos casos de PE ocorre em mulheres nulíparas saudáveis, sem fatores de risco evidentes (ACOG, 2019). Nesse contexto, estudos sugerem que pode haver um componente genético que predispõe ao desenvolvimento da PE (Agius *et al.*, 2018; Tyrmi *et al.*, 2023; Williams e Broughton Pipkin, 2011). Além disso, evidências apontam que o histórico familiar materno de PE aumenta o risco de PE em 3 a 4 vezes (Serrano *et al.*, 2020). No entanto, até o momento, nenhum gene de risco elevado foi identificado (Dimitriadis *et al.*, 2023).

2.1.3. Profilaxia e manejo

Atualmente, a profilaxia da PE inclui a administração de aspirina em doses baixas, a suplementação de cálcio antes da vigésima semana de gestação e a administração de sulfato de magnésio para prevenção de convulsões (Davidson *et al.*, 2021). Recentemente, o Ministério da Saúde recomendou que todas as gestantes do Brasil façam suplementação de cálcio para prevenir PE e eclâmpsia. Esse novo protocolo visa reduzir a morbimortalidade materna e infantil.

Já o manejo da PE está limitado ao controle da PA. No entanto, o único tratamento é o nascimento do feto com remoção completa da placenta. Como consequência, um terço de todos os casos de PE requer parto prematuro e isso, frequentemente, leva a repercussões ao longo da vida para a criança, incluindo maiores taxas de hipertensão, disfunção renal, resistência à insulina, obesidade ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) e DCV (Kajantie *et al.*, 2019).

Em relação a aspirina, foi mostrado que ela é altamente eficaz na prevenção da PE quando administrada em mulheres com risco elevado, antes de 16 semanas de gestação, reduzindo sua incidência em mais de 60%. Portanto, idealmente, a identificação de mulheres com risco elevado deve ser realizada no primeiro trimestre da gravidez (Rolnik, Nicolaides, e Poon, 2022).

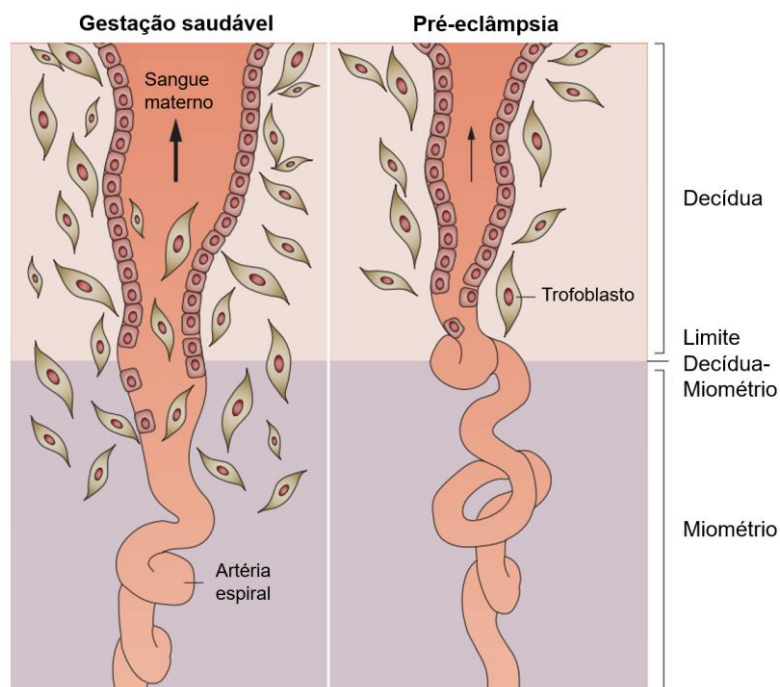
Em relação ao sulfato de magnésio, um estudo mostrou que a incidência de eclâmpsia caiu drasticamente de 12,4 por 10.000 partos em 2003 para 5,9 em 2009, provavelmente devido ao aumento do uso de sulfato de magnésio para profilaxia de convulsões (Liu *et al.*, 2011).

2.1.4. Fisiopatologia

Embora a etiologia da PE ainda não seja completamente compreendida, sabe-se que a presença da placenta é fundamental para o desenvolvimento da doença, uma vez que a PE ocorre, exclusivamente, em situações onde uma placenta está ou esteve presente (Dimitriadis *et al.*, 2023).

Para garantir uma função placentária eficaz, é necessário que haja uma ramificação e vascularização extensiva das vilosidades placentárias no início da gestação (Bakrania *et al.*, 2020). Em uma gravidez saudável, as células responsáveis pela formação da placenta, denominadas trofoblastos, migram para as artérias espirais uterinas e formam seios vasculares que fornecem nutrição ao feto. Essa invasão avança profundamente até o nível do miométrio, promovendo a remodelação de vasos estreitos para vasos de elevada capacitância e elevado fluxo (Brosens *et al.*, 2011). Em placentas afetadas pela PE, os trofoblastos não conseguem se transformar do tipo proliferativo para o tipo invasivo. Como resultado, ocorre uma remodelação incompleta das artérias espirais, levando a isquemia placentária. Essa condição desencadeia a hipertensão compensatória, que pode impactar diversos órgãos maternos (Rana *et al.*, 2019). Os mecanismos responsáveis pela falha da transformação fisiológica das artérias espirais não foram totalmente elucidados (Chaiworapongsa *et al.*, 2014). A **Figura 1** esquematiza a falha na remodelação fisiológica das artérias espirais na PE.

Figura 1 – Remodelação das artérias espirais na gravidez saudável e na PE.



Fonte: Adaptado de Chaiworapongsa, 2014.

Dessa forma, observa-se que a PE se desenvolve em dois estágios principais: primeiro, ocorre uma placentação anormal, caracterizada por problemas na formação e função da placenta. Em seguida, a condição evolui para uma síndrome materna, resultante da liberação de proteínas solúveis pela placenta na circulação, provocando inflamação e disfunção endotelial (Rana *et al.*, 2019).

Além disso, a fisiopatologia se difere entre a PE de início precoce e a PE de início tardio. Na PE de início precoce, a invasão trofoblástica inadequada e a consequente placentação defeituosa são fatores predominantes, estando associada a lesões vasculares extensas da placenta. Em contraste, na PE de início tardio, a suscetibilidade materna assume um papel mais significativo e as lesões placentárias são, em geral, mínimas (Chaiworapongsa *et al.*, 2014; Steegers *et al.*, 2010). Ou seja, aquelas mulheres com uma vasculatura saudável geralmente desenvolvem PE quando confrontadas com a placentação defeituosa. Em contrapartida, aquelas com vasculatura suscetível podem desenvolver PE devido à má adaptação do seu sistema vascular às demandas impostas pela gravidez (Myatt e Roberts, 2015).

Vale destacar que as implicações a longo prazo na saúde materna

também se diferem. Mulheres com histórico de PE de início precoce apresentam maior risco de DCV, renal e cerebrovascular. Enquanto a PE de início precoce está associada a um risco 5 vezes maior de morte relacionada a DCV materna, a PE de início tardio eleva esse risco em 1,65 vezes, em comparação com mulheres sem histórico de PE (Dimitriadis *et al.*, 2023).

2.1.5. Prevalência e repercussões maternas

A PE é uma das principais causas de mortalidade e morbidade materna no Brasil e no mundo (ACOG 2019; Guida *et al.*, 2022). No contexto brasileiro, a prevalência da PE varia ao longo do tempo e entre diferentes regiões. Uma metanálise revelou que a prevalência agrupada de PE no Brasil é de 6,7% (Guida *et al.*, 2022). Também se observou um aumento na prevalência da PE quando comparados dois períodos distintos: em estudos publicados até 2010, a prevalência foi de 4,4%, enquanto em estudos publicados após 2010, a prevalência aumentou para 8,2% (Guida *et al.*, 2022). Esse aumento está relacionado à adoção de novos critérios diagnósticos para a PE, o que ampliou a detecção de casos que anteriormente poderiam não ser reconhecidos (Guida *et al.*, 2022).

É importante ressaltar que no Brasil, nas áreas mais desenvolvidas, a prevalência estimada da PE foi de 0,2%, com uma taxa de mortalidade materna de 0,8%. Em contraste, em regiões menos desenvolvidas, a prevalência atingiu 8,1%, com uma taxa de mortalidade materna de 22,0% (Giordano *et al.*, 2014). Esses dados evidenciam a importância de um atendimento adequado, que pode reduzir a mortalidade materna associada às complicações da PE (Lotufo *et al.*, 2016).

O agravamento dos sintomas da PE pode ocorrer de forma rápida, inesperada e até mesmo fulminante, evoluindo para quadros críticos como coagulação intravascular disseminada, derrame, embolia pulmonar, acidocetose metabólica, insuficiência cardíaca, trombose, eclâmpsia e síndrome HELLP (ACOG, 2020). A eclâmpsia é definida pela ocorrência de convulsões em mulheres com PE, que não podem ser explicadas por outras causas como epilepsia, isquemia arterial cerebral, infarto, hemorragia intracraniana e uso de drogas. A síndrome HELLP é caracterizada por hemólise, elevação da atividade

das enzimas hepáticas e contagem reduzida de plaquetas. Os principais sintomas dessa síndrome são epigastralgia, náuseas e vômitos (Dimitriadis *et al.*, 2023). Além disso, a PE pode provocar restrição do crescimento fetal, elevar a taxa de mortalidade fetal, contribuir para o surgimento de hipertensão e outras DCV, causar atrasos no desenvolvimento físico e na maturação dos reflexos sensório-motores, aumentar o IMC, induzir alterações na neuroanatomia e resultar em reduções da função cognitiva em crianças nascidas de gestações afetadas por essa condição (Dimitriadis *et al.*, 2023).

Embora os sintomas da PE desapareçam após a remoção completa da placenta, sabe-se que essa síndrome está associada ao risco aumentado de DCV a longo prazo (Chappell *et al.*, 2021). No primeiro ano pós-parto, mulheres com histórico de PE apresentam risco elevado de desenvolver hipertensão crônica (Jacobsen *et al.*, 2022). No entanto, análises indicaram que a ocorrência da hipertensão crônica explica apenas cerca de 50% do aumento no risco de insuficiência cardíaca e doença arterial coronariana observado após a PE (Honigberg *et al.*, 2019). Isso sugere que outros fatores, como dislipidemia, inflamação exacerbada e disfunção vascular, frequentemente associados à fisiopatologia da PE, possam estar envolvidos (Staff *et al.*, 2024). Staff *et al.* (2024) relataram que mulheres com histórico de PE possuem risco elevado de desenvolver diabetes mellitus e doença renal terminal, ambos atuando como mediadores na morbidade e mortalidade cardiovascular materna (Staff *et al.*, 2024).

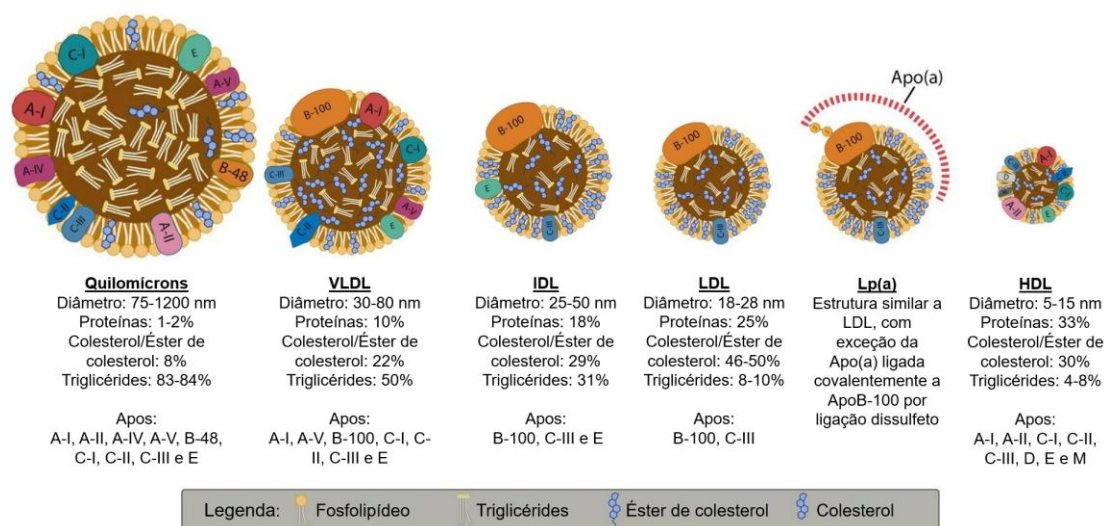
2.2. Lipoproteínas

Os lipídeos desempenham inúmeras funções biológicas, entre as quais se destacam a formação das membranas plasmáticas, seu papel como molécula de sinalização e a função de reserva energética (Ding *et al.*, 2022). Por serem substâncias insolúveis em água, os lipídeos circulam no plasma contidos em estruturas esféricas denominadas lipoproteínas (Feingold, 2024). A superfície das lipoproteínas é uma membrana hidrofílica composta por fosfolipídeos, colesterol livre e apolipoproteínas (Apos) e envolve um núcleo hidrofóbico de lipídios apolares (Feingold, 2022). As Apos proporcionam estabilidade às lipoproteínas e têm outras três funções principais: (1) atuar como ligantes para receptores de lipoproteínas, (2) guiar a formação de lipoproteínas e (3) servir

como ativadores ou inibidores de enzimas envolvidas no metabolismo de lipoproteínas. Portanto, desempenham um papel crucial no metabolismo das lipoproteínas (Rosenson *et al.*, 2011).

As lipoproteínas são divididas em classes de acordo com seu tamanho, conteúdo lipídico, densidade e Apos associadas. Essas classes incluem os quilomícrons, a lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), a lipoproteína de densidade intermediária (IDL), a lipoproteína de densidade baixa (LDL), a lipoproteína (a) (Lp(a)) e a lipoproteína de densidade alta (HDL) (Feingold, 2022). A **Figura 2** representa os tipos e estruturas das lipoproteínas.

Figura 2 – Tipos e estruturas das lipoproteínas



Fonte: Adaptado de Wern, 2021.

Apo: Apoproteína; VLDL: Lipoproteína de Muito Baixa Densidade; IDL: Lipoproteína de Densidade Intermediária; LDL: Lipoproteína de Densidade Baixa; Lp(a): Lipoproteína (a); HDL: Lipoproteína de Densidade Alta.

Os quilomícrons, LDL, IDL, VLDL e Lp(a) têm como função principal o transporte de colesterol e/ou triglicerídeos do fígado para os tecidos periféricos. No entanto, quando os níveis de colesterol estão elevados, ele pode se acumular nas paredes dos vasos sanguíneos. Por esse motivo, essas lipoproteínas são consideradas pró-aterogênicas. Em contraste, a HDL atua removendo o excesso de colesterol das células e tecidos periféricos e transportando-o de volta ao fígado, onde ele será reutilizado ou excretado pela bile. Devido a essa função, a HDL é considerada antiaterogênica, além de possuir propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antitrombóticas e antiapoptóticas (Feingold, 2022).

2.2.1. Metabolismo das lipoproteínas

O sistema de transporte de lipídios no plasma pode ser dividido em duas vias: a via exógena, que envolve o transporte de colesterol e triglicerídeos provenientes da digestão de gorduras no intestino, e a via endógena, que envolve o transporte do colesterol e dos triglicerídeos produzidos internamente, pelo fígado e outros tecidos não intestinais (Feingold, 2022).

A via exógena inicia-se com a metabolização do colesterol e triglicerídeos provenientes da alimentação no lúmen intestinal para formar micelas que são absorvidas pela parede intestinal. Após a absorção, as micelas de triglicerídeos e de colesterol são reesterificadas nas células intestinais e combinadas com a Apo B-48, fosfolipídios e colesterol livre, formando os quilomícrons nascentes. Os quilomícrons nascentes captam a Apo C-II e a Apo E do HDL, formando os quilomícrons maduros. Esses quilomícrons maduros são liberados na linfa intestinal e entram na corrente sanguínea. Nessa região, a Apo C-II ativa a enzima lipoproteína lipase, que quebra os triglicerídeos em ácidos graxos livres (AGL). Os AGL atravessam as células endoteliais e entram nos adipócitos para armazenamento ou nas células musculares para oxidação (Zhyvotovska, Yusupov, e I. McFarlane, 2019).

Após a quebra dos triglicerídeos em AGL, formam-se as partículas remanescentes dos quilomícrons, que são ricas em ésteres de colesterol e contêm Apo E. Essas partículas são removidas da circulação através da ligação da Apo E à receptores específicos nas células hepáticas. Uma vez no fígado, os remanescentes dos quilomícrons são internalizados por endocitose e degradados pelos lisossomos, liberando colesterol, que pode ser convertido em ácidos biliares, excretado na bile ou incorporado em lipoproteínas hepáticas, como a VLDL (Zhyvotovska, Yusupov, e I. McFarlane, 2019).

A via endógena envolve o transporte de lipídios produzidos e secretados, principalmente, pelo fígado. Os triglicerídeos são sintetizados a partir de ácidos graxos livres e carboidratos e são liberados na circulação através de partículas de VLDL, que também contêm colesterol e a Apo B-100 (Brahm e Hegele, 2015; Feingold, 2022).

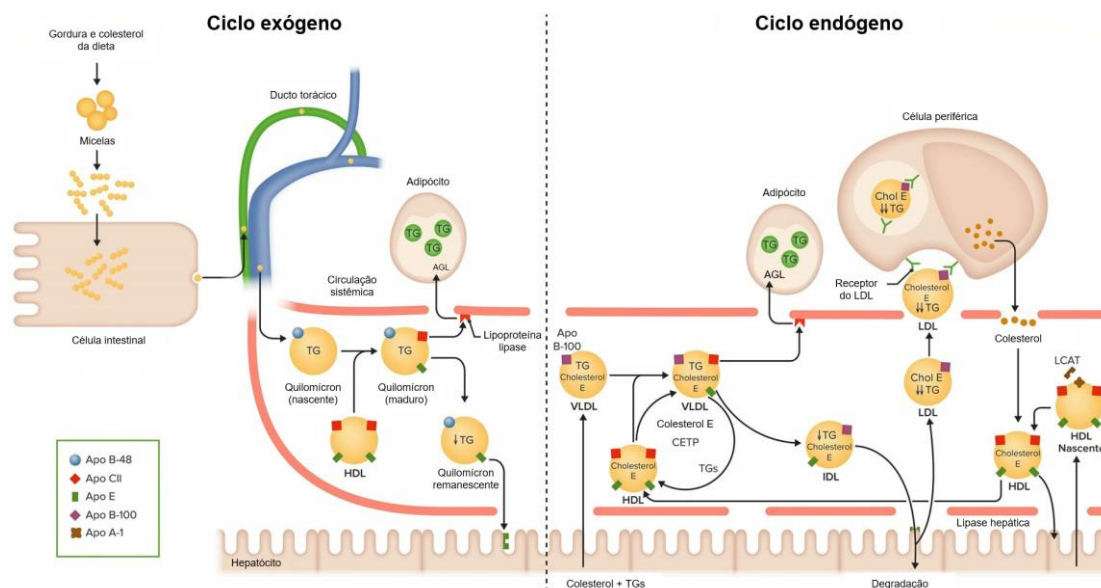
Uma vez que a VLDL entra na corrente sanguínea, a Apo C-II e a Apo E

são trocadas entre a VLDL e a HDL. A Apo C-II incorporada na VLDL ativa a lipoproteína lipase nos capilares dos tecidos adiposo e muscular, resultando na hidrólise dos triglicerídeos e na liberação de ácidos graxos livres. Além disso, a Proteína de Transferência de Éster de Colesterol (CETP) facilita a troca de TG e ésteres de colesterol entre a HDL e a VLDL. Esse processo dá origem às IDL, que são absorvidas pelo fígado, onde são degradadas ou podem sofrer nova hidrólise, resultando na formação das LDL, que são ricas em colesterol (Feingold, 2024).

A LDL transporta a maior parte do colesterol que está na circulação. Além disso, desempenha a função essencial de fornecer colesterol para células com receptores de LDL, como aquelas nas glândulas adrenais, músculos esqueléticos, linfócitos, gônadas e rins (Feingold, 2024). A remoção da LDL do plasma ocorre predominantemente por endocitose mediada pelo LDL-R no fígado. Quando esse processo é interrompido, como em certas doenças genéticas, os níveis de LDLc plasmático aumentam (Klein-Szanto e Bassi, 2019). Outra via alternativa de remoção de LDL envolve células do sistema reticuloendotelial, que fagocitam o excesso de LDL no plasma, prevenindo o acúmulo de colesterol (Klein-Szanto e Bassi, 2019).

Por fim, a HDL medeia o transporte reverso do colesterol, removendo-o das células periféricas e levando-o para o fígado, esse fato justifica seu efeito antiaterogênico (Feingold, 2024). O pré-beta HDL adquire colesterol de células periféricas e forma o HDL maduro (Berberich e Hegele, 2022). Para reter o colesterol dentro da HDL, a enzima Lecitina Colesterol Acetiltransferase (LCAT) facilita sua esterificação. A depuração da HDL inclui sua captação direta pelo fígado ou por outros tecidos. A HDL liga-se aos receptores SR-B1 presentes em superfícies celulares, de forma que o colesterol contido na lipoproteína é entregue ao interior da célula. Além disso, o colesterol da HDL pode ser transferido para outras lipoproteínas, como VLDL ou LDL através da ação da CETP (Na-Aicha, Badimon, e Vilahur, 2020). A **Figura 3** ilustra o ciclo exógeno e endógeno do colesterol.

Figura 3 – Ciclo exógeno e endógeno do colesterol



Fonte: Adaptado de <https://www.lecturio.com/pt/concepts/metabolismo-do-colesterol/>.

AGL: Ácidos Graxos Livres; Apo: Apoproteína; CETP: Proteína de Transferência de Éster de Colesterol; Chol E/Colesterol E: Colesterol Esterificado; HDL: Lipoproteína de Densidade Alta; IDL: Lipoproteína de Densidade Intermediária; LCAT: Lecitina Colesterol Acetiltransferase; LDL: Lipoproteína de Densidade Baixa; Lp(a): Lipoproteína (a); TG: triglicerídeos; VLDL: Lipoproteína de Muito Baixa Densidade.

2.3. Dislipidemia e aterosclerose

A dislipidemia é caracterizada por alterações nos níveis de lipídios no sangue e suas causas podem ser primárias, de origem genética, e secundárias decorrente de estilo de vida inadequado, uso de medicamentos e condições patológicas como diabetes, obesidade ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$), tabagismo, etilismo, ingestão excessiva de gorduras e sedentarismo (SBC, 2017). Os índices mais comumente medidos no perfil lipídico padrão incluem CT, TG, VLDLc, LDLc e HDLc (Ballard-Hernandez e Sall, 2023).

A consequência clínica mais comumente associada à dislipidemia é a doença cardiovascular aterosclerótica (DCVA), que está associada a níveis elevados de CT, TG, LDLc, Lp(a), bem como níveis reduzidos de HDLc (Berberich e Hegele, 2022). A aterosclerose, por sua vez, está associada a várias DCV como doença arterial coronariana, infarto agudo do miocárdio (IAM) e acidente vascular encefálico (AVE) (Albacha *et al.*, 2015). Portanto, o tratamento precoce da dislipidemia pode reduzir o risco de complicações cardíacas (Dalal,

2016).

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial, desencadeada por lesões no endotélio que afeta, principalmente, a camada íntima das artérias de médio e grande calibre (Malekmohammad, Bezsonov, e Rafieian-Kopaei, 2021). A formação da placa aterosclerótica inicia-se quando o endotélio é lesado, em razão do estresse oxidativo e mecânico associados à dislipidemia, hipertensão arterial, tabagismo ou predisposição genética. As lesões aumentam a permeabilidade do endotélio às lipoproteínas plasmáticas, permitindo sua retenção na camada íntima. Uma vez na íntima, a LDL sofre oxidação, expondo novos epítomos e tornando-se imunogênica. Além disso, os resíduos de lisina da ApoB-100 são modificados. A ApoB-100 modificada não é mais reconhecida pelo LDL-R, impedindo sua remoção da circulação através da via clássica do LDL-R (Melendez *et al.*, 2017).

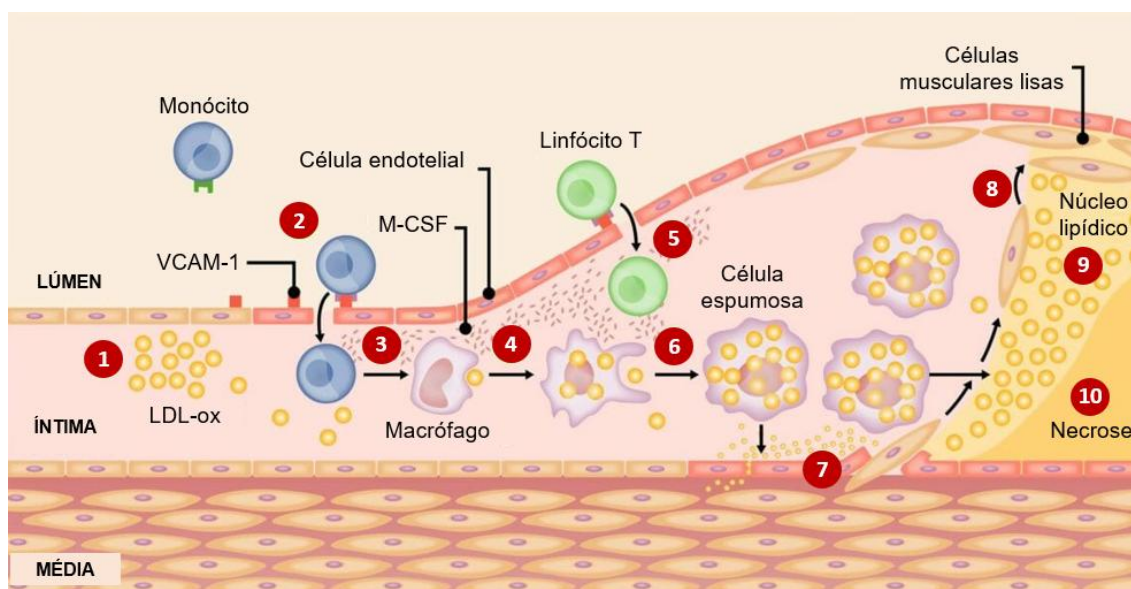
Outra manifestação da disfunção endotelial é o surgimento de moléculas de adesão leucocitária na superfície endotelial, processo estimulado pela presença de LDL-ox. As Moléculas de Adesão Celular Vascular-1 (VCAM-1) são responsáveis pela atração de monócitos e linfócitos para a parede arterial. Induzidos por proteínas quimiotáticas, como o Fator Estimulador de Colônias de Macrófagos (M-CSF). Os monócitos migram para a camada íntima, e se diferenciam em macrófagos, que fagocitam as LDL-ox, transformando-se em células espumosas. Uma vez ativados, os macrófagos secretam citocinas, potencializando a inflamação e também secretam enzimas proteolíticas, capazes de degradar colágeno e outros componentes teciduais locais (Jiang *et al.*, 2022).

Os macrófagos não são capazes de processar o LDL-ox e, como resultado, eventualmente essas se rompem, depositando mais LDL-ox na parede da artéria. Consequentemente, mais macrófagos são enviados para a área, repetindo o ciclo. À medida que o processo continua, mediadores da inflamação estimulam a migração e a proliferação das células musculares lisas da camada média arterial. Essas, ao migrarem para a íntima, passam a produzir não só citocinas e fatores de crescimento, como também matriz extracelular, que forma parte da capa fibrosa da placa aterosclerótica (Melendez *et al.*, 2017).

A placa aterosclerótica plenamente desenvolvida é constituída por

elementos celulares, componentes da matriz extracelular e núcleo necrótico rico em lipídeos, formado principalmente por células mortas. As placas estáveis caracterizam-se por predomínio de colágeno, organizado em capa fibrosa espessa, escassas células inflamatórias, e núcleo necrótico rico em lipídeos (Jiang *et al.*, 2022). A ruptura da capa fibrosa expõe material lipídico altamente trombogênico, levando à formação de trombos. Esse processo, também conhecido por aterotrombose, é um dos principais determinantes das manifestações clínicas da aterosclerose (SBC, 2017). A **Figura 4** ilustra a fisiopatologia da aterosclerose.

Figura 4 – Fisiopatologia da aterosclerose



Fonte: Adaptado de <https://www.lecturio.com/pt/concepts/aterosclerose/>

Patogênese da aterosclerose: (1) Ativação das células endoteliais pelo LDL-ox; (2) Expressão de moléculas de adesão leucocitária (VCAM-1) e consequente adesão de monócitos; (3) Migração de monócitos para a camada íntima; (4) Diferenciação dos monócitos em macrófagos e liberação de quimosinas (M-CSF); (5) Migração de linfócitos T e macrófagos; (6) Formação de células espumosas ricas em lipídios; (7) Migração e replicação de células musculares lisas vasculares; (8) Acúmulo de células musculares lisas na placa, formando uma lesão fibroproliferativa; (9, 10) Morte das células espumosas e formação de um centro necrótico.

LDL-ox: Lipoproteína de baixa densidade oxidada; M-CSF: Fator Estimulador de Colônias de Macrófagos; VCAM-1: Molécula de adesão celular vascular-1.

Em cerca de metade dos casos, a primeira manifestação da doença aterosclerótica é um evento coronário agudo. Portanto, a identificação precoce de indivíduos assintomáticos com risco aumentado de desenvolver a doença é fundamental para uma prevenção eficaz, permitindo a definição adequada de

metas terapêuticas personalizadas (Martins *et al.*, 2021).

2.3.1. Histórico de pré-eclâmpsia e risco de dislipidemia e aterosclerose

Diversos estudos mostraram que mulheres com histórico de PE apresentam maior risco de desenvolver dislipidemia após a gestação (Bokslag *et al.*, 2017; Brouwers *et al.*, 2018; Hermes *et al.*, 2012; Zoet *et al.*, 2015). Uma meta-análise evidenciou que mulheres com histórico de PE apresentam níveis elevados de TG, CT, LDLc, e níveis reduzidos de HDLc, em comparação com mulheres que tiveram gestações normotensas (Hermes *et al.*, 2012). Nas mulheres brasileiras que tiveram PE, foi relatada uma prevalência de 82,3% de síndrome metabólica (gordura corporal elevada, dislipidemia, resistência à insulina e hipertensão arterial) 14 anos após o parto (Pinto, 2014). Em decorrência desses achados, a PE foi reconhecida como um fator de risco para dislipidemia, sendo incluída nas Diretrizes de Gerenciamento do Colesterol de 2018 da *American College of Cardiology (ACC)* e da *American Heart Association (AHA)* como um potencializador desse risco (ACC e AHA, 2018), bem como na Diretriz de Prevenção Primária de Doenças Cardiovasculares do ACC/AHA de 2019 (ACC e AHA, 2019).

As consequências da PE não se limitam à dislipidemia, há também evidências que associam essa condição a um risco aumentado de desenvolvimento de aterosclerose a longo prazo. Hauge *et al.* (2022) demonstraram que a prevalência de aterosclerose em mulheres dinamarquesas com idade entre 40 e 55 anos com histórico de PE é maior em relação a população em geral (Hauge *et al.*, 2022). Essas mulheres são classificadas como de “baixo risco estimado de DCV em 10 anos”, segundo os sistemas tradicionais de pontuação de risco cardiovascular, pois essas estimativas são fortemente influenciadas pela idade e sexo (Honigberg e Jowell, 2022). No entanto, 27,4% dessas mulheres apresentavam aterosclerose coronariana detectável por angiotomografia, sugerindo que os modelos de risco tradicionais podem subestimar o risco cardiovascular nessa população (Hauge *et al.*, 2022).

Corroborando esses dados, Zoet *et al.* (2018), mostraram que 47% das mulheres holandesas com histórico de PE apresentaram placas ateroscleróticas

nas artérias coronárias e 26% tiveram estenose, em um período de 10 a 20 anos após a ocorrência da PE (Zoet *et al.*, 2018).

Esses achados destacam a forte associação entre o histórico PE e o risco aumentado de aterosclerose. No entanto, as evidências disponíveis foram obtidas em populações europeias, havendo uma escassez de estudos que avaliem essa relação em mulheres brasileiras. Considerando as diferenças socioeconômicas e de acesso aos cuidados de saúde no Brasil e países da Europa, é fundamental investigar como esses fatores podem influenciar o risco cardiovascular de mulheres brasileiras com histórico de PE.

2.4. Doenças Cardiovasculares

Doença cardiovascular é um termo geral que abrange doenças que afetam o coração ou o sistema vascular, como hipertensão, angina de peito, aterosclerose, doença cardíaca isquêmica, IAM, insuficiência cardíaca (IC), doenças cerebrovasculares, AVE, arritmias, doença cardíaca valvar e doença vascular periférica (Vasatova *et al.*, 2013). As DCV são a principal causa de morte no Brasil e no mundo e representam sérios desafios de saúde pública (Virani *et al.*, 2021). Segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia, o SUS gasta, anualmente, mais de R\$ 1 bilhão com procedimentos cardiovasculares (Oliveira *et al.*, 2024).

Há uma série de fatores de risco para DCV, incluindo idade, hipertensão arterial, hiperlipidemia, diabetes, tabagismo, consumo excessivo de álcool, histórico familiar de DCV, obesidade ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) e falta de atividade física (Cole e Kramer, 2016). Ressalta-se que condições específicas das mulheres como a história obstétrica e ginecológica, incluindo síndromes hipertensivas da gravidez, diabetes gestacional, parto prematuro, menopausa prematura e ovários policístico também são fatores de risco importantes para a DCV (Theodorou *et al.*, 2024).

No entanto, apesar da ampla gama de materiais educacionais disponíveis na literatura sobre a prevenção, diagnóstico e tratamento de DCV, ainda faltam diretrizes específicas sobre diagnóstico e manejo de DCV que considerem fatores de risco exclusivos de mulheres (Adreak *et al.*, 2021). Os resultados dessa lacuna são evidenciados no estudo de Filippis *et al.* (2020) que revelou

que mulheres estadunidenses jovens com IAM, frequentemente, não recebem terapia médica orientada por diretrizes, possuem maior probabilidade de nova internação e piores taxas de morbimortalidade (DeFilippis *et al.*, 2020).

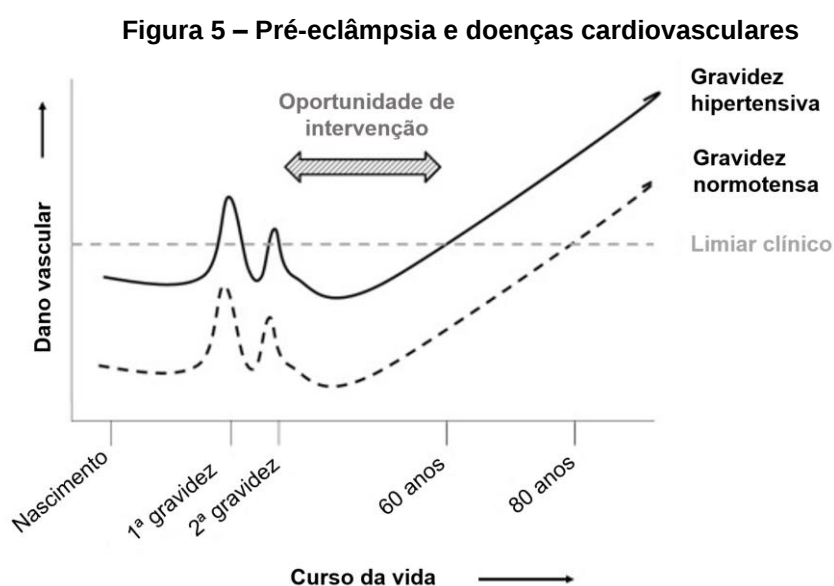
Recentemente, no Brasil, a PE foi reconhecida nas Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial (2020) como um fator de risco adicional de DCV (Barroso *et al.*, 2021). Entretanto, os serviços de saúde ainda não parecem preparados para reconhecer mulheres com histórico de PE como vulneráveis às DCV. Frequentemente, essas mulheres são tratadas de forma equivalente à população feminina geral, sem considerar seu maior risco cardiovascular (Silva *et al.*, 2014).

2.4.1. Histórico de pré-eclâmpsia e risco de doenças Cardiovasculares

Diversos estudos já demonstraram que mulheres com histórico de PE apresentam perfil metabólico alterado após o parto, o que pode justificar o maior risco cardiovascular e a expectativa de vida reduzida desse grupo (AHA, 2017; Benschop *et al.*, 2019; Bokslag *et al.*, 2017; Brouwers *et al.*, 2018; Cho *et al.*, 2019; Christensen *et al.*, 2016; Drost *et al.*, 2012; Forest *et al.*, 2005; Garovic *et al.*, 2010; Pinto, 2014). Uma revisão sistemática de 2017 incluindo mais de 6,4 milhões de mulheres mostrou que aquelas com histórico de PE têm um risco 4 vezes maior de insuficiência cardíaca, 2,5 vezes maior de doença cardíaca coronária, 1,8 vezes maior de AVE e 2,2 vezes maior de morte por DCV do que mulheres sem histórico de PE (AHA, 2017). Há também um risco 3 vezes maior de desenvolver condições neurológicas, como demência vascular (Basit, Wohlfahrt, e Boyd, 2019). O risco de desenvolver muitas destas complicações a longo prazo aumenta acentuadamente em casos de ocorrência de PE recorrente, nascimento prematuro, restrição do crescimento fetal e outras complicações graves (Theilen *et al.*, 2018).

Os aspectos fisiopatológicos da via comum entre PE e DCV ainda não estão claros e algumas teorias são discutidas. A primeira hipótese é que mulheres que desenvolvem PE e aquelas que desenvolvem DCV têm fatores de risco comuns que se manifestam na gravidez em função do estresse que essa condição representa (Benschop, Duvekot, e Roeters van Lennep, 2019). A segunda hipótese é que novos fatores de risco ocorrem durante a gestação

complicada pela PE e o risco é induzido de forma independente pela gravidez ou, ainda, pode haver uma combinação das duas hipóteses (Benschop, Duvekot, e Roeters van Lennep, 2019). Sendo assim, é possível que a disfunção endotelial observada na PE potencialize uma cascata de eventos que, posteriormente, pode evoluir para aterosclerose (Diniz, Paes, e Diniz, 2020). A **Figura 5** ilustra a janela de oportunidade para adoção de medidas preventivas antes que as DCV sejam desenvolvidas.



Fonte: Adaptado de Sattar e Greer, *BMJ*, 2002.

2.4.2. Manejo do risco e predição de doenças cardiovasculares após a pré-eclâmpsia

Embora estudos tenham indicado o aumento do risco de DCV após a PE, a literatura existente não fornece um consenso claro sobre o momento ideal de acompanhamento das mulheres que tiveram PE (Inversetti *et al.*, 2024; Jääskeläinen *et al.*, 2022; Jowell *et al.*, 2022; Taylor *et al.*, 2019). Um estudo australiano que avaliou a qualidade e o conteúdo das diretrizes de prática clínica sobre o risco de DCV após a PE mostrou que muitas recomendações pós-parto para mulheres são baseadas em recomendações gerais para toda a população para reduzir o risco de DCV, como intervenções no estilo de vida e monitoramento regular dos fatores de risco como PA, glicose e colesterol (Atkinson *et al.*, 2023).

Essas recomendações são amplamente eficazes na redução do risco de DCV na população em geral e, portanto, são úteis, dada a falta de evidências

específicas adaptadas para mulheres no pós-parto (Pinckard, Baskin, e Stanford, 2019; Yu, Malik, e Hu, 2018). Diversos estudos têm sido realizados visando estabelecer a eficácia dessas intervenções em mulheres que tiveram PE (Berks *et al.*, 2013; Pinckard, Baskin, e Stanford, 2019; Yu, Malik, e Hu, 2018; Lui, Jeyaram, e Henry, 2019).

Cumprе ressaltar que menos da metade das diretrizes incluiu recomendações sobre o aconselhamento de mulheres a respeito de seu risco futuro de DCV (Atkinson *et al.*, 2023). O aconselhamento é particularmente relevante, pois há evidências de que mulheres que tiveram PE apresentam maior motivação para adotar modificações sustentadas do estilo de vida se receberem orientação pela primeira vez durante a gravidez ou no início do pós-parto (Sandsæter *et al.*, 2019). Considerando esses fatos, é fundamental que sejam feitas recomendações direcionadas ao manejo do risco de DCV futura para essas mulheres.

No contexto da predição de DCV, técnicas de imagem não invasivas, como a avaliação da espessura íntima-média da artéria coronária (CIMT), podem ser úteis para detectar doença aterosclerótica subclínica (Aparicio *et al.*, 2021). Além disso, o escore de cálcio da artéria coronária demonstrou ser eficaz na detecção precoce de danos cardiovasculares (Shreya *et al.*, 2021). No entanto, poucos estudos investigaram essas técnicas em mulheres com histórico de PE na quarta e quinta décadas de vida, quando os primeiros sinais de DCV prematura têm maior probabilidade de se tornarem aparentes (Zoet *et al.*, 2015).

Os parâmetros lipídicos também já foram avaliados em mulheres com histórico de PE, em diferentes períodos após o parto, para verificar a presença de disfunções que justifiquem o risco aumentado de DCV nesse grupo. No entanto, os resultados encontrados são conflitantes (Berends *et al.*, 2008; Christensen *et al.*, 2016; Drost *et al.*, 2012; Fraser *et al.*, 2012; Magnussen *et al.*, 2009).

Berends *et al.* (2008), Christensen *et al.* (2016) e Drost *et al.* (2012) avaliaram mulheres em períodos mais próximos ao parto (média < 10 anos) e mostraram que não houve diferenças nos níveis de TG, CT, HDLc, LDLc entre mulheres que tiveram PE e o grupo controle. Enquanto Fraser *et al.* (2012),

Magnussen *et al.* (2009) avaliaram mulheres mais tarde após o parto (média > 10 anos) e encontraram níveis mais elevados de LDLc e CT em mulheres com histórico de PE. Isso sugere que um perfil lipídico adverso pode estar presente a longo prazo após gestações complicadas por PE.

Devido à elevada incidência e ao impacto das consequências da PE (Mayrink *et al.*, 2019; Siqueira, Siqueira-Filho e Land, 2017), são necessárias mais pesquisas que visem à identificação de marcadores clínicos e laboratoriais de risco de DCV e ao gerenciamento do risco entre mulheres com histórico de PE para aprimorar as diretrizes baseadas em evidências.

2.5. Pró-proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9 (PCSK9)

2.5.1. Características da PCSK9

A PCSK9 é o nono membro da família da proteína convertase, um grupo de serina proteases que são caracterizadas por sua capacidade de hidrolisar ligações peptídicas de seus substratos, promovendo sua ativação ou inativação (Barale *et al.*, 2021).

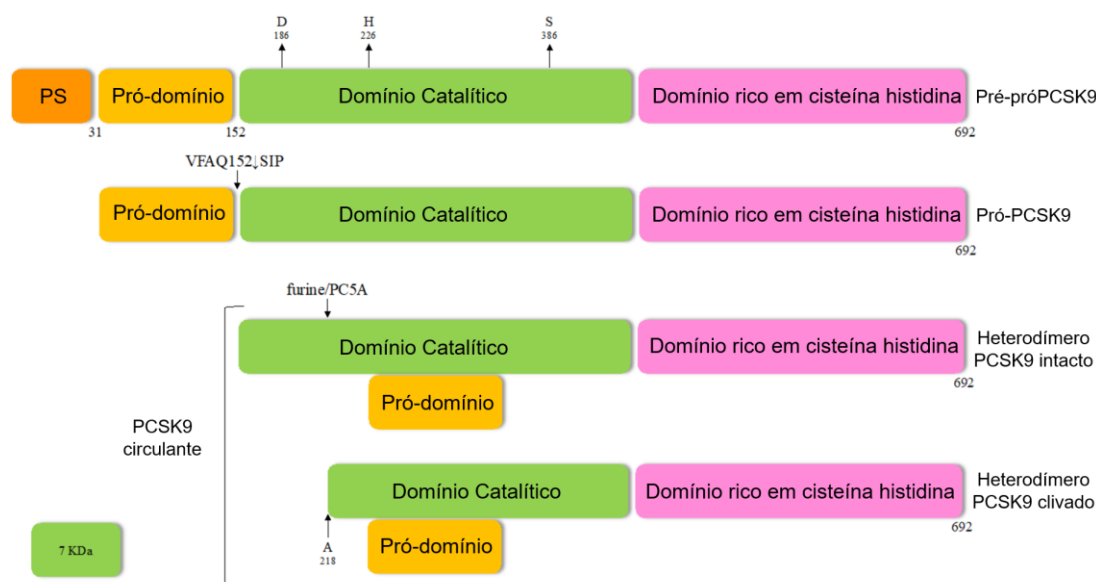
As oito primeiras convertases (PC1, PC2, furina, PC4, PC5, PACE4, PC7 e SKI-1) clivam precursores de proteínas para gerar peptídeos, polipeptídeos e hormônios biologicamente ativos, que desempenham papéis cruciais na regulação do crescimento e do metabolismo (Couture, D'Anjou, e Day, 2011). Por outro lado, a PCSK9 sofre autoclivagem, o que a impede de desempenhar sua função como uma protease. Em vez disso, ela exerce uma ação não enzimática, promovendo a degradação do principal receptor responsável pela regulação do metabolismo do LDL, o LDL-R (Benjannet *et al.*, 2004; Maxwell e Breslow, 2004).

A estrutura da pré-pró-PCSK9 apresenta um peptídeo sinal (PS) e três domínios estruturais distintos: o pró-domínio, o domínio catalítico e o domínio C-terminal, que é rico em cisteína e histidina (Benjannet *et al.*, 2004).

A PCSK9 passa por várias modificações pós-traducionais antes de se tornar totalmente funcional para se ligar ao seu alvo. O primeiro evento ocorre de forma co-traducional no retículo endoplasmático, quando a pré-pró-PCSK9

perde seu PS formando a pró-PCSK9 (Chong *et al.*, 2024). A pró-PCSK9 formada passa por um processo autocatalítico, no qual ela se divide em duas partes: um pró-domínio e um domínio maduro da PCSK9. Essas duas partes se mantêm unidas de forma não covalente, formando um heterodímero. Provavelmente, a atividade de protease da PCSK9 é interrompida para evitar o alinhamento da tríade catalítica, prevenindo, assim, a clivagem das proteínas circundantes (Ajoolahady *et al.*, 2024). Por fim, a PCSK9 madura é secretada para fora das células do fígado como um heterodímero intacto (Ajoolahady *et al.*, 2024). A **Figura 6** esquematiza o processamento da PCSK9.

Figura 6 - Processamento do pré-proPCSK9 levando à forma madura clivada da PCSK9



Fonte: Adaptado de Barale, *et al.*, 2021.

Uma vez secretado na superfície celular, a PCSK9 interage diretamente com o fator de crescimento epidérmico de repetição do domínio A (EGF-A) do LDL-R, resultando na internalização do LDL-R, o qual é, então, degradado (Barale *et al.*, 2021).

Além disso, a PCSK9 plasmática pode existir como heterodímero intacto, que tem maior capacidade de se ligar e degradar o LDL-R (Shapiro, Tavori, e Fazio, 2018) e como um heterodímero clivado, que apresenta uma afinidade reduzida pelo LDL-R, cerca de duas vezes menor (Lipari *et al.*, 2012). No entanto, ainda não está claro se a maioria da PCSK9 plasmática mensurável por ensaio imunoenzimático (ELISA) representa a forma intacta ou clivada da proteína (Kosenko *et al.*, 2013).

A PCSK9 é expressa predominantemente pelo fígado, intestino e rins e é regulada pela proteína de ligação ao elemento regulador de esterol (SREBP) (Chong *et al.*, 2024). Esse fator de transcrição é ativado em resposta à depleção de colesterol celular, promovendo a transcrição de genes relacionados ao metabolismo lipídico, incluindo o da PCSK9 (Barale *et al.*, 2021).

Além disso, estudos epidemiológicos demonstraram que os níveis plasmáticos de PCSK9 podem ser influenciados por vários fatores, incluindo idade, sexo, variações genéticas, citocinas inflamatórias e, ainda, podem ser modulados pela presença de comorbidades ou por estímulos farmacológicos que alterem a expressão da PCSK9 (Baass *et al.*, 2009; Browning e Horton, 2010; Ghosh *et al.*, 2015; Persson *et al.*, 2010; Ferri e Ruscica, 2016; Schulz e Schlüter, 2017).

A PCSK9 aumenta com a idade (Matyas *et al.*, 2023), sendo também mais elevada em mulheres do que em homens (Jia *et al.*, 2022). Esse aumento é mais pronunciado em mulheres na pós-menopausa do que em mulheres na pré-menopausa (Ghosh *et al.*, 2015; Jia *et al.*, 2022). Supõe-se que o estrogênio afete a expressão e a função do PCSK9 por meio de mecanismos transcricionais (Jia *et al.*, 2022).

Diversas comorbidades metabólicas podem afetar a expressão e concentração de PCSK9. Em pacientes diabéticos, por exemplo, os níveis plasmáticos da PCSK9 estão positivamente correlacionados com os níveis de insulina e glicose (Ibarretxe *et al.*, 2016; Momtazi *et al.*, 2017). A insulina eleva a expressão de PCSK9 por meio da ativação do fator de transcrição SREBP (Ajoolabady *et al.*, 2024).

No contexto da hipertensão, a PCSK9 pode regular a pressão arterial ao reduzir a expressão do canal epitelial de sódio (EnaC) na superfície das células renais. Esse canal é crucial para a reabsorção de sódio. Portanto, a redução dos níveis de PCSK9 aumenta a absorção renal de Na^+ e, portanto, aumenta o risco de hipertensão (Guo *et al.*, 2021). Além disso, em modelos murinos, a ausência de PCSK9 reduziu levemente a pressão arterial sistólica (PAS) em fêmeas, mas não alterou a pressão arterial dos machos (Berger *et al.*, 2015).

Em pacientes com doença renal crônica, os níveis plasmáticos de PCSK9

são reduzidos quando comparados a população saudável (Abujrad *et al.*, 2014). Resultados semelhantes foram observados em mulheres com síndrome metabólica, nas quais os níveis de PCSK9 estavam reduzidos em comparação com mulheres sem síndrome metabólica (Hasan *et al.*, 2017).

A inflamação também modula a expressão da PCSK9. Foi demonstrada uma correlação entre os níveis de PCSK9 e a ativação de vários genes pró-inflamatórios que aceleram o desenvolvimento da aterosclerose (Bao *et al.*, 2024). O aumento nos níveis da PCSK9 promove a polarização de monócitos para um fenótipo pró-inflamatório e aumenta a secreção de interleucina 1 beta (IL-1 β), interleucina 18 (IL-18), interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF) (Bao *et al.*, 2024). A administração de LPS (lipopolissacarídeo que ativa o sistema imunológico e estimula a secreção de citocinas pró-inflamatórias) também regula positivamente a expressão hepática da PCSK9. Da mesma forma, a inflamação estimulada por terebintina e zimosan induz a expressão hepática da PCSK9 (Bao *et al.*, 2024).

Por fim, a terapia com estatinas é outro fator importante na modulação da PCSK9. O tratamento com esses fármacos está associado ao aumento dos níveis plasmáticos da PCSK9 (Kuyama *et al.*, 2021), devido à ativação do fator de transcrição SREBP, que induz a elevação dos níveis de mRNA de PCSK9 (Kuyama *et al.*, 2021). Esse mecanismo ajuda a explicar por que as estatinas, ao mesmo tempo em que reduzem o LDLc, aumentam os níveis circulantes de PCSK9, indicando um processo de regulação compensatória.

2.5.2. Interação da PCSK9 no metabolismo do LDLc

A PCSK9 possui o papel central de regular o metabolismo do LDLc (Macchi *et al.*, 2021). Sua função fisiológica foi elucidada a partir da identificação de mutações funcionais no gene da PCSK9 que causam hipercolesterolemia autossômica dominante (Hunt *et al.*, 2000). Posteriormente, o gene foi estabelecido como um dos principais causadores da hipercolesterolemia familiar (Abifadel *et al.*, 2003). Atualmente, mais de cem mutações que influenciam a função da PCSK9 foram identificadas (Hummelgaard *et al.*, 2023).

Pacientes com mutações de ganho de função são propensos a apresentarem níveis elevados de LDLc e desenvolvem hipercolesterolemia

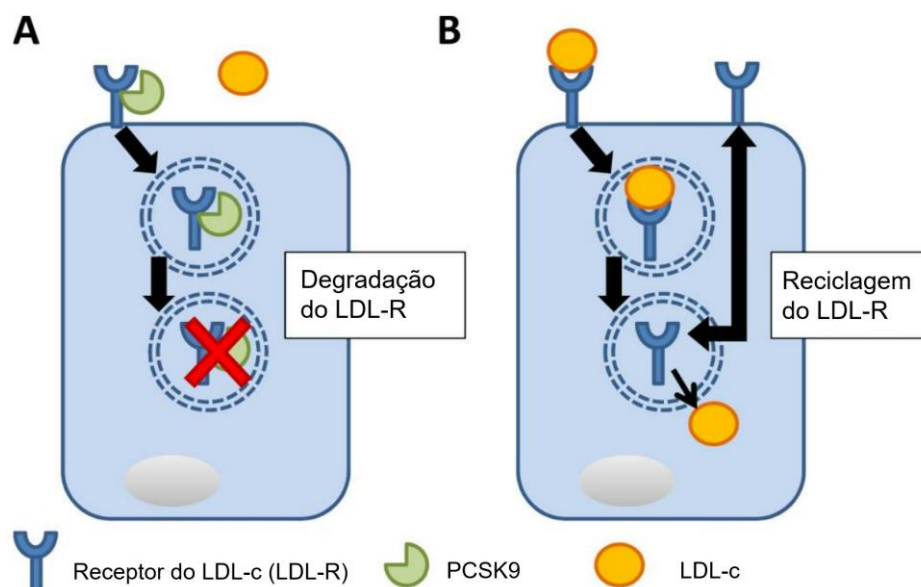
acompanhada por um risco cardiovascular elevado (Bayona *et al.*, 2020). Em contraste, os portadores de mutações de perda de função na PCSK9 apresentam uma maior densidade de LDL-R hepático, níveis reduzidos de LDLc e um risco reduzido de desenvolver DCV (Bayona *et al.*, 2020).

Diante dessas evidências, a PCSK9 tem sido o alvo de muitos ensaios farmacêuticos para inibir ou reduzir sua função (Blom *et al.*, 2016; Pirillo, Catapano, e Norata, 2021). Os chamados inibidores de PCSK9 reduzem os níveis de LDLc em aproximadamente 60% (Sabatine *et al.*, 2017).

O mecanismo de ação da PCSK9 na regulação da LDL melhor caracterizado envolve a degradação dos LDL-R. O LDL-R é a via preferencial pela qual a LDL é eliminada da circulação. A PCSK9 impede a reciclagem dos LDL-R para a superfície celular e promove sua degradação via endossomal/lisossomal. Esse processo reduz a quantidade de receptores disponíveis, eleva as concentrações plasmáticas de LDLc e aumenta o risco de DCV (Steinberg e Witztum, 2009).

O LDL-R está presente no fígado e na maioria dos outros tecidos. Ele reconhece ApoB-100 e ApoE e, portanto, medeia a captação de LDL, quilomícrons remanescentes e IDL, por meio de endocitose. Após a internalização, a partícula lipoproteica é degradada nos lisossomos e o colesterol é liberado para o uso celular (Feingold, 2024). A maioria dos receptores é reciclada de volta à superfície celular, onde podem mais uma vez se ligar e internalizar lipoproteínas. Os LDL-R são continuamente reciclados até serem alvo de degradação pela PCSK9 (Melendez *et al.*, 2017). A **Figura 7** ilustra esse processo.

Figura 7 – Esquema da interação entre PCSK9 e LDL-R em um hepatócito



Fonte: Adaptado de Schlegel, et al., 2017.

A: A PCSK9 disponível se liga ao LDL-R e resulta na internalização do receptor, seguida pela degradação lisossomal. B: Sem a PCSK9 disponível, o colesterol LDL é internalizado pelo LDL-R no hepatócito. O LDL-R circula depois de volta à superfície.

A PCSK9 também interage com outras proteínas em tecidos hepáticos e extra-hepáticos. No tecido adiposo, promove a degradação do receptor VLDL (VLDL-R), limitando a adipogênese visceral (Y. Tang *et al.*, 2020). Também promove a degradação da proteína-1 relacionada a LDL-R (LRP1), que é a principal responsável pela eliminação do fator de coagulação VIII do plasma, e do receptor 2 de apoE (apoE-R2) (Bao *et al.*, 2024). O apoE-R2 é um receptor expresso em macrófagos que se liga a apoE. A apoE desempenha uma função anti-inflamatória, promovendo a redução do acúmulo de lipídios nos macrófagos e inibindo a formação de células espumosas (Bai *et al.*, 2018).

Além da interação com receptores, a PCSK9 inibe a expressão do CD36 (cluster de diferenciação 36) nos cardiomiócitos, nas células intestinais e nos adipócitos (Demers *et al.*, 2015). O aumento da expressão do CD36 amplifica a captação de ácidos graxos e o acúmulo de triglicerídeos e gotículas lipídicas (Demers *et al.*, 2015).

2.5.3. Efeitos pleitrópicos da PCSK9

Desde o lançamento do primeiro inibidor da PCSK9 em 2015, efeitos inesperados foram progressivamente descritos. Foi relatado que pacientes em

tratamento com o inibidor da PCSK9 apresentaram reatividade plaquetária reduzida e melhora na disfunção endotelial coronária (Andreadou *et al.*, 2020; Barale *et al.*, 2020).

Estudos sugeriram que a PCSK9 contribui para a aterogênese de forma indireta, ao elevar os níveis de lipídios plasmáticos, e de forma direta, ao promover a inflamação e a apoptose das células endoteliais (Li *et al.*, 2017; Tang *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2012; Z. Ding *et al.*, 2015). Esses dois mecanismos resultam na redução da estabilidade vascular e no aumento da expressão de moléculas de adesão, quimioatraentes e citocinas inflamatórias (Kühnast *et al.*, 2014).

A PCSK9, de forma mais específica, promove a apoptose de células endoteliais, induzida pelo LDL oxidado (LDL-ox), por meio da via JNK/p38 MAPK (Li *et al.*, 2017) e ativa genes relacionados a citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias nos macrófagos, como a IL-1 β , a IL-6, a quimiocina CXC ligante 2 (CXCL2) e proteína quimioatraente de monócitos 1 (MCP-1) (Bao *et al.*, 2024). Além disso, a PCSK9 estimula a expressão de moléculas de adesão como a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), e de fatores quimiotáticos, como as proteínas quimioatraentes de monócitos 1 e 2 (MCP-1) e (MCP-2), favorecendo a adesão e infiltração de monócitos na parede dos vasos (Ricci *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2018).

Dois estudos relataram que a PCSK9 pode ativar o Receptor Tipo Toll 4 (TLR4) e o Fator Nuclear κ B (NF- κ B) para induzir respostas inflamatórias na aterosclerose (Huang *et al.*, 2023; Tang *et al.*, 2017). Barale *et al.* (2021) sugeriram que a PCSK9 pode ter uma influência no desenvolvimento da aterosclerose, mesmo quando não há mudanças nos níveis de lipídios plasmáticos, interagindo com outros receptores ou proteínas envolvidas na patogênese da doença (Barale *et al.*, 2021).

Em relação ao papel da PCSK9 na trombose, essa proteína exerce efeitos na cascata da coagulação e interage com plaquetas. O Fator VIII tem um papel essencial na coagulação. Esse fator se liga ao LRP1 e é removido do sangue pelo LRP1 no fígado (Chun *et al.*, 2022). Como a PCSK9 degrada o LRP1, ela pode reduzir a remoção hepática do Fator VIII, o que aumenta o risco de

trombose (Paciullo *et al.*, 2022).

Evidências adicionais sugerem uma correlação positiva entre os níveis circulantes de PCSK9 e fatores de ativação plaquetária, como CDL40L solúvel, tromboxano B2, fator plaquetário-4 e P-selectina (Barale *et al.*, 2020; Cammisotto *et al.*, 2020; Navarese *et al.*, 2017). Quando ativadas, as plaquetas se aderem às células endoteliais de artérias ateroscleróticas, liberando fatores plaquetários que provocam uma resposta inflamatória e eventos trombóticos (Podrez *et al.*, 2007). Também foi documentado que a depleção da PCSK9 está associada à proteção contra trombose e à redução do recrutamento de leucócitos no local da trombose (Wang *et al.*, 2017).

A PCSK9 também exerce vários efeitos no coração independentemente da regulação do LDLc (Y. Guo *et al.*, 2021). O IAM leva a um aumento na produção de PCSK9 nos cardiomiócitos. Contudo, o mecanismo subjacente ainda não é totalmente compreendido (Z. Ding *et al.*, 2018). O aumento da PCSK9 estimula a autofagia excessiva e a morte celular dos cardiomiócitos, o que contribui para o desenvolvimento da insuficiência cardíaca (Z. Ding *et al.*, 2018). Sabe-se que a PCSK9 produzida por cardiomiócitos promove a secreção de citocinas pró-inflamatórias (TNF, IL-6 e IL-1 β) por macrófagos por meio da ativação da via de sinalização NF- κ B (Guo *et al.*, 2021).

Cumprе ressaltar que o CD36 (um dos alvos de degradação da PCSK9) é amplamente expresso em células endoteliais e cardiomiócitos e regula parcialmente a captação de ácidos graxos pelo miocárdio. Como os ácidos graxos livres são uma fonte essencial de energia para o miocárdio, a deficiência de CD36 pode estar associada a lesão cardíaca (Dehn e Thorp, 2018; Y. Guo *et al.*, 2021).

2.5.4. PCSK9 e pré-eclâmpsia

Os estudos disponíveis na literatura determinaram os níveis da PCSK9 durante a gestação de mulheres que desenvolveram PE.

Sabe-se que a PE está associada à redução do LDLc materno, que é essencial para o crescimento fetal. Contudo, os mecanismos responsáveis por essa redução do LDLc ainda não estão completamente esclarecidos (Vaught *et*

al., 2023). Para investigar essa questão, Vaught *et al.*, (2023) analisaram o papel da PCSK9 no metabolismo lipídico de mulheres com PE com critérios de gravidade, tanto no sangue materno, quanto no sangue fetal e demonstraram que mulheres com PE apresentaram níveis reduzidos de PCSK9 e de LDLc em comparação com mulheres com gestações saudáveis. No entanto, foi observado que os níveis de PCSK9 na circulação fetal foram mais elevados em relação aos níveis da circulação materna. Esse possível mecanismo compensatório na circulação fetal pode manter os níveis de PCSK9 comparáveis aos de fetos de gestações normais saudáveis (Vaught *et al.*, 2023).

Em concordância com o estudo anterior, Mennitti *et al.* (2024) também encontraram níveis reduzidos de PCSK9 e níveis elevados de citocinas inflamatórias (TNF, TGF- β , IL-2, IL-6 e IL-8) em mulheres com PE de início precoce e tardio em comparação a mulheres com gestações saudáveis. No entanto, não obtiveram diferença nos níveis de LDLc entre os grupos (Mennitti *et al.*, 2024).

Em contraste, Abbasifard, *et al.* (2023) encontraram níveis elevados de PCSK9 e LDLc em mulheres com PE em comparação ao grupo de gestantes normotensas. Esses pesquisadores admitiram que o aumento da PCSK9 pode contribuir com o aumento do estresse oxidativo observado nessa condição, agravando a hipertensão e outros sintomas associados à PE (Abbasifard *et al.*, 2023).

Em conjunto, esses dados mostram que a relação entre PCSK9, LDLc e PE apresentam resultados variados, refletindo a complexidade da condição. Essas discrepâncias destacam a necessidade de mais pesquisas para esclarecer os mecanismos subjacentes.

2.5.5. PCSK9 e risco de doenças cardiovasculares

Por ser uma proteína circulante, a PCSK9 exerce efeitos diretos na placa aterosclerótica, além de sua capacidade de regular os níveis de LDLc (Shapiro, Tavori e Fazio, 2018). Estudos evidenciaram uma relação direta de níveis de PCSK9 e o aumento da espessura da artéria carótida em indivíduos assintomáticos (Chan *et al.*, 2016; Huijgen *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2013; Tóth *et al.*, 2017).

Adicionalmente, foi relatada uma relação estatística entre a concentração plasmática de PCSK9 e a progressão da aterosclerose, evidenciada pela área total das placas ateroscleróticas, independentemente da concentração plasmática de LDLc (Xie *et al.*, 2016). Outro achado relevante foi a associação entre os níveis plasmáticos de PCSK9 e a pontuação de cálcio da artéria coronária (CAC) (Alonso *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2018).

Em relação aos efeitos da PCSK9 na função endotelial, Leucker *et al.* (2020) avaliaram a função endotelial coronária em pacientes HIV-positivos com níveis de LDLc próximos ao ideal e em pacientes dislipidêmicos e observaram uma melhora da função endotelial coronária após o tratamento com um inibidor de PCSK9. No entanto, não houve alterações nos marcadores inflamatórios séricos. Diante disso, os autores sugeriram que os efeitos protetores da inibição da PCSK9 podem estar relacionados a um efeito anti-inflamatório local na parede arterial, em vez de mudanças nos biomarcadores inflamatórios sistêmicos (Leucker *et al.*, 2020).

Cheng *et al.* (2016) em um estudo clínico envolvendo pacientes com angina estável ou síndrome coronariana aguda revelaram uma correlação linear entre os níveis de PCSK9 e o núcleo necrótico da placa aterosclerótica, independente dos níveis de LDLc (Cheng *et al.*, 2016). Em conjunto, esses resultados indicam um papel independente da PCSK9 na promoção de processos inflamatórios e no agravamento da aterosclerose.

Em relação aos efeitos da PCSK9 na trombose, Navarese *et al.* (2013) avaliaram pacientes com evento recente de síndrome coronariana aguda. Demonstraram que os níveis séricos de PCSK9 foram correlacionados com alta reatividade plaquetária e uma maior incidência de resultados aterotrombóticos (Navarese *et al.*, 2013). Em outro estudo semelhante, realizado com pacientes com fibrilação atrial, foi avaliada a correlação entre os níveis de PCSK9 e marcadores de ativação plaquetária, como a P-selectina solúvel e a formação de tromboxano B₂, bem como LDL-ox e marcadores de estresse oxidativo. Os resultados demonstraram que a PCSK9 foi associada a uma taxa maior de agregação e recrutamento plaquetário e níveis mais elevados de formação sérica de tromboxano B₂, liberação de P-selectina e de LDL-ox (Cammisotto *et al.*, 2020).

Além de investigar a associação entre PCSK9 e a aterosclerose clínica e subclínica, alguns estudos avaliaram o potencial da PCSK9 como indicador de risco para o desenvolvimento de DCV. O *Women's Health Study* revelou que os níveis de PCSK9 não foram diferentes entre mulheres que tiveram eventos cardiovasculares e aquelas que não tiveram (Ridker *et al.*, 2016). Outros dois estudos também não encontraram associação entre níveis de PCSK9 e eventos cardiovasculares futuros (Leander *et al.*, 2016; Zhu *et al.*, 2015).

Por outro lado, Leander *et al.* (2016) relataram que indivíduos que apresentavam níveis elevados de PCSK9 no sangue, mas níveis reduzidos de LDLc, apresentaram um risco maior de eventos cardiovasculares futuros em comparação com aqueles que apresentaram tanto PCSK9 quanto LDLc elevados (Leander *et al.*, 2016). Isso indica que a PCSK9 não adicionou risco aos efeitos exercidos pelo aumento do LDLc (Leander *et al.*, 2016).

Diante das evidências apresentadas, pode-se concluir que a PCSK9 desempenha um papel crucial no metabolismo da LDL e em processos inflamatórios. Devido à estreita correlação da DCV com os níveis lipídicos e inflamação, atualmente, muitas investigações sobre a PCSK9 estão em andamento. Segue a versão revisada do parágrafo, escrita de forma mais formal, impessoal e alinhada ao estilo de um texto científico:

Com base nas evidências expostas, conclui-se que a PCSK9 exerce um papel fundamental no metabolismo da LDL e nos processos inflamatórios. Dada a estreita relação entre doenças cardiovasculares (DCV) e os níveis lipídicos e a inflamação, diversas pesquisas sobre a PCSK9 encontram-se em desenvolvimento. Atualmente, observa-se uma crescente ênfase na comunidade científica na avaliação de biomarcadores capazes de elucidar o risco elevado de DCV em mulheres com histórico de pré-eclâmpsia (PE), destacando-se a relevância e a atualidade dessa linha de investigação. Contudo, ainda são escassos os estudos que investiguem a associação entre os níveis de PCSK9 e o perfil lipídico em mulheres com histórico de PE. Dessa forma, a avaliação dos níveis plasmáticos de PCSK9, bem como dos parâmetros lipídicos tradicionais, e a caracterização clínica de mulheres com histórico de PE, poderão fornecer informações valiosas sobre os mecanismos subjacentes ao aumento do risco de DCV nesse grupo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar o perfil lipídico, os níveis plasmáticos da PCSK9 e as características clínicas de mulheres com histórico de PE com critérios de gravidade.

3.2. Objetivos Específicos

Em mulheres com e sem histórico de PE:

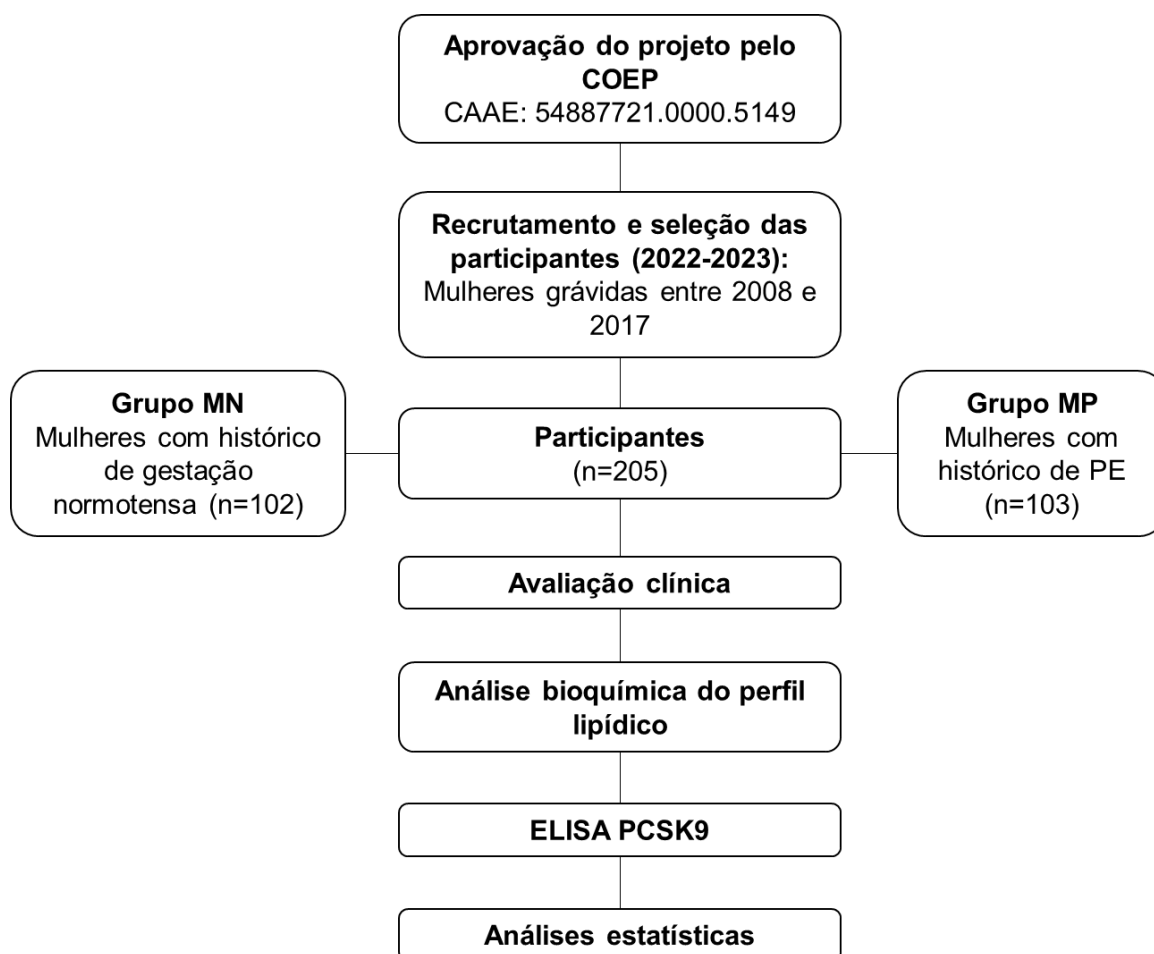
- Caracterizar o histórico obstétrico e dados demográficos;
- Coletar e analisar dados relacionados aos parâmetros físicos: peso, altura, IMC, percentual de gordura, pressão arterial, circunferência de cintura, abdômen e quadril;
- Determinar o perfil lipídico tradicional: CT, HDLc, LDLc, VLDLc, não-HDLc e TG;
- Otimizar o procedimento analítico do produto PCSK9 *Duo Set* ELISA da R&D Systems® (DY3888), considerando as características das pacientes a serem avaliadas e as condições do laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Farmácia;
- Determinar os níveis plasmáticos da PCSK9;
- Avaliar a frequência de doenças crônicas relacionadas ao desenvolvimento de DCV: hipertensão arterial crônica (HAC), diabetes mellitus e hipercolesterolemia;
- Avaliar a frequência de síndrome metabólica.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Delineamento experimental

Este estudo de coorte retrospectivo foi planejado e realizado conforme ilustrado na **Figura 8** e descrito no **Capítulo 1**.

Figura 8 – Delineamento experimental do estudo



Fonte: Dados da pesquisa.

4.2. Aspectos éticos

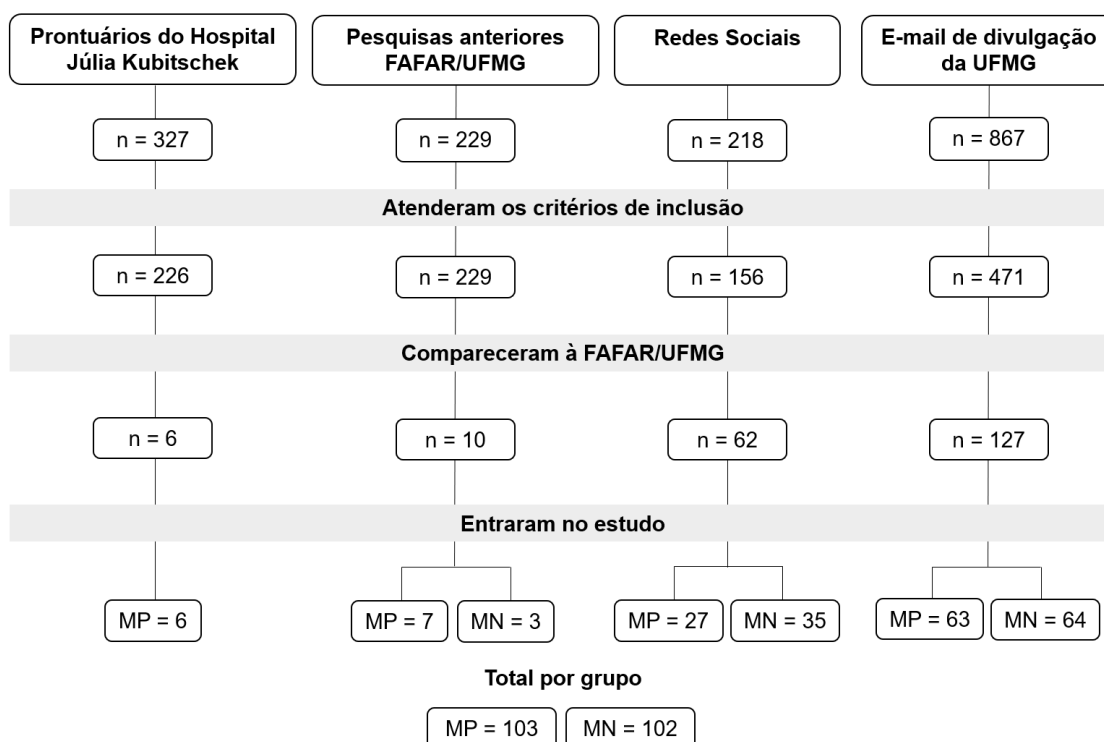
O presente estudo é um subprojeto de um projeto previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), CAAE: 54887721.0.0000.5149, parecer nº 5.216.461 (**ANEXO I**) e pela instituição coparticipante Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG), CAAE: 46792921.3.3002.5119, parecer nº 4.906.245 (**ANEXO II**). Os objetivos do estudo foram esclarecidos a todas as participantes, utilizando linguagem acessível. Aquelas que concordaram em participar do estudo

assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (**APÊNDICE I**) e responderam uma ficha clínica de interesse para a pesquisa (**APÊNDICE II**).

4.3. Casuística

Entre os anos de 2022 e 2023, foram convidadas para participar do estudo PERLA, mulheres que tiveram PE e mulheres que tiveram gestações normotensas e sem complicações entre 1º de janeiro de 2008 e 31 de dezembro de 2017. Os convites foram enviados, primeiramente, às mulheres que fizeram parte de pesquisas prévias (2009-2010) das professoras Patrícia Nessralla Alpoim e Luci Maria Sant'Ana Dusse da Faculdade de Farmácia da (FAFAR/UFMG) e também para mulheres atendidas no Hospital Júlia Kubitschek. Posteriormente, a divulgação também foi realizada por meio de redes sociais e pelo e-mail de divulgação da comunidade UFMG. A **Figura 9** ilustra o recrutamento e seleção das participantes.

Figura 9 – Recrutamento e seleção das participantes



Fonte: Dados da pesquisa.

A seleção das mulheres, de acordo com os critérios de inclusão, foi realizada entre fevereiro de 2022 e agosto de 2023 por alunos de iniciação científica, mestrado e doutorado envolvidos no projeto, por meio da avaliação de

exames, cartão de pré-natal, documentos médicos ou análise de prontuários. As mulheres selecionadas foram encaminhadas para local próprio da Faculdade de Farmácia da UFMG, onde passaram por uma avaliação clínica e por coleta das amostras biológicas.

4.3.1. Critérios de inclusão

Grupo de mulheres com histórico de PE (MP)

Mulheres que tiveram PE com critérios de gravidade, entre 1º de janeiro de 2008 e 31 de dezembro de 2017, sendo os critérios para diagnóstico definidos de acordo com as diretrizes do *American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG 2019):

- Mínimo de dois episódios de PAS/pressão arterial diastólica (PAD) $\geq$ 160/110 mmHg (com quatro horas de intervalo entre as medições) após 20 semanas de gestação, sendo complementado por evidências de danos sistêmicos, como:
- Proteinúria superior a 0,3 g/L em urina de 24 horas e/ou maior que uma cruz, em amostras isoladas, pelo método semiquantitativo de fita reagente e/ou;
- Trombocitopenia (contagem de plaquetas inferior a $100.000 \times 10^9/L$);
- Função hepática comprometida, indicada por elevação sérica da atividade de enzimas hepáticas (até o dobro do limite superior da atividade normal) e dor persistente e intensa no quadrante superior direito do abdômen ou epigástrica, não responsiva a medicamentos e sem outras explicações diagnósticas;
- Insuficiência renal (concentração de creatinina sérica superior a 1,1 mg/dL ou duplicação da concentração sérica de creatinina na ausência de outra doença renal);
- Edema pulmonar;
- Cefaleia de início recente, não responsiva a medicamentos e sem outras explicações diagnósticas e;
- Distúrbios visuais.

Cumprе ressaltar que o diagnóstico de PE foi confirmado de três formas:

por meio dos prontuários dos hospitais, de registros de estudo anterior ou com base nos cartões pré-natal, exames e registros médicos da gravidez de referência, disponibilizados pelas participantes do estudo.

Grupo de mulheres sem histórico de PE (MN)

Mulheres que tiveram gestações normotensas, com PAS/PAD abaixo ou igual a 120/80 mmHg, entre 1º de janeiro de 2008 e 31 de dezembro de 2017, sem histórico de hipertensão arterial ou proteinúria e que não fizeram parte do pré-natal de alto risco. Da mesma forma, a confirmação de gestação normotensa foi baseada na análise dos prontuários dos hospitais, por meio de registros de estudo anterior ou com base nos cartões pré-natal, exames e registros médicos da gravidez de referência, disponibilizados pelas participantes do estudo.

4.3.2. Critérios de exclusão

Em ambos os grupos foram excluídas as mulheres que apresentaram, previamente e/ou no momento da gestação, doenças intercorrentes como distúrbios da coagulação, doenças autoimunes, hepáticas, renais, HAC, DCV, diabetes, obesidade ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) e câncer. Considerou-se também como critério de exclusão o diagnóstico de PE sem critérios de gravidade, diagnóstico inconclusivo, parto fora do intervalo do estudo e gestação em curso.

4.4. Tamanho amostral

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado considerando as variâncias da PAS, PAD, pressão arterial média (PAM) e LDL, obtidas a partir do banco de dados do projeto PERLA-Brasil, uma vez que esses parâmetros são as principais variáveis associadas ao risco cardiovascular, de acordo com a Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) (SBC, 2017). O cálculo que considerou a variância do LDL resultou no maior tamanho amostral, totalizando 176 participantes (88 em cada grupo). Esse cálculo foi realizado com um poder estatístico de 99% e um nível de significância de 5%. Portanto, os tamanhos amostrais calculados para todas as variâncias (PAS, PAD, PAM e LDL) foram inferiores ao utilizado no presente estudo, que incluiu 205 participantes (MN=102 e MP=103).

4.5. Coleta de dados e avaliação física

As mulheres que atenderam aos critérios de inclusão passaram por uma coleta sanguínea e uma anamnese. Nessa etapa, foi preenchida uma ficha clínica (**APÊNDICE II**) com dados relativos às gestações e às condições de saúde da mulher.

Alunos treinados conduziram todos os procedimentos do estudo e os seguintes dados foram coletados usando equipamentos e técnicas padrão: pressão arterial (mmHg), peso (kg), altura (m), IMC (kg/m^2), percentual de gordura (%) e circunferências da cintura, abdômen e quadril (cm). Uma balança eletrônica de bioimpedância calibrada (Cadence Smart Care BAL200®) foi usada para obter o peso e os percentuais de gordura de mulheres vestindo roupas leves e sem sapatos. A PA foi aferida pelo Monitor de Pressão Arterial de Pulso Smartpro Q-400 TechLine®. As medições foram feitas na posição sentada, 10 minutos após a chegada das mulheres. A PAM foi calculada pela equação: $PAM = [(2 \text{ PAD}) + \text{PAS}]/3$. Para medir a altura e circunferências de cintura, abdômen e quadril, foi utilizada uma fita métrica. A relação cintura/quadril foi obtida dividindo a circunferência da cintura pela do quadril, em centímetros. O IMC foi calculado dividindo o peso pela altura elevada ao quadrado.

Para avaliar o diagnóstico de doenças crônicas (HAC, diabetes e hipercolesterolemia), foi utilizado como critério o uso contínuo de medicamentos prescritos por médicos para essas condições, sendo eles:

- HAC: enalapril, hidroclorotiazida, anlodipina, losartana, captopril, espironolactona e indapamida.
- Diabetes: metformina.
- Hipercolesterolemia: rosuvastatina, atorvastatina, sinvastatina e ezetimiba.

A partir da coleta de dados e avaliação física, um robusto banco de dados clínicos/demográficos foi confeccionado.

4.6. Amostra biológica: coleta e armazenamento

Foram coletadas de cada participante, sem exigência de jejum, 4 mL de

amostra de sangue venoso em tubos a vácuo do Sistema BD Vacutainer® sem anticoagulante e 4 mL em tubos a vácuo do Sistema BD Vacutainer® com heparina. Os tubos foram devidamente identificados. As amostras de sangue foram centrifugadas em uma centrífuga refrigerada Heraeus Multifuge X1R, ThermoFisher Scientific® a 4000 rotações por minuto (rpm), durante 10 minutos, a 4°C, dentro de 2 horas após a coleta de sangue para separação do soro e do plasma. Posteriormente, todas as amostras foram divididas várias alíquotas e armazenadas em freezer a -80°C.

4.7. Avaliação do perfil lipídico

Os parâmetros do perfil lipídico foram determinados utilizando produtos comercializados pela empresa Bioclin®, baseados na metodologia enzimática/colorimétrica. As amostras de soro, descongeladas à temperatura ambiente, tiveram suas absorbâncias medidas no equipamento semiautomatizado Bioclin 100®, no laboratório de Bioquímica do Colégio Técnico da UFMG (Coltec), seguindo rigorosamente os protocolos do fabricante.

4.7.1. Determinação do colesterol total

A determinação do CT foi realizada utilizando o produto Bioclin® colesterol monoreagente (Ref. K083). Nesse ensaio, as enzimas lipases e oxidases catalisam a decomposição, respectivamente, do éster de colesterol e do colesterol livre presentes na amostra, resultando na formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e outros substratos. Em seguida, por ação da enzima peroxidase, o H_2O_2 reage com a 4-aminoantipirina e forma um composto colorido. A intensidade da cor gerada é diretamente proporcional à concentração de CT na amostra. O valor de referência para adultos maiores de 20 anos é inferior à 190 mg/dL (com ou sem jejum) (SBC, 2017).

4.7.2. Determinação do colesterol HDL

A determinação da HDLc foi realizada utilizando o produto Bioclin® colesterol HDL direto (Ref. K071). Nesse ensaio, foi realizada a dosagem seletiva do colesterol ligado ao HDL. Para isso, as superfícies da LDLc, VLDLc e quilomícrons são estabilizadas por adsorção a um poliânion, de modo que não sofrem ação das enzimas colesterol esterase, colesterol oxidase e peroxidase

adicionadas ao soro. O HDLc, no entanto, é solubilizado por um detergente, expondo sua superfície e permitindo a ação enzimática. As enzimas colesterol esterase e colesterol oxidase catalisam a decomposição, respectivamente, do éster de colesterol e do colesterol livre presentes na amostra, resultando na formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e outros substratos. Em seguida, por ação da enzima peroxidase, o H_2O_2 reage com a 2,2'-difetil-1-picril-hidrazila e forma um composto colorido. A intensidade da cor gerada é diretamente proporcional à concentração de HDLc na amostra. O valor de referência desejável para adultos maiores de 20 anos é superior à 40 mg/dL (com ou sem jejum) (SBC, 2017).

4.7.3. Determinação do colesterol LDL

A determinação da LDLc foi realizada utilizando o produto Bioclin® colesterol LDL direto (Ref. K088). Nesse ensaio, foi realizada a dosagem seletiva do colesterol ligado à LDL. O processo inicia-se com a adição das enzimas colesterol esterase e colesterol oxidase e de um detergente que solubiliza o HDLc, o VLDLc e os quilomícrons, preservando o LDLc inalterado. Após a solubilização dos colesterolis pelo detergente, a colesterol esterase e a colesterol oxidase catalisam a decomposição do HDLc e do VLDLc em quilomícrons. Em seguida, é adicionado um segundo detergente e as enzimas colesterol esterase e colesterol oxidase que catalisam a decomposição, respectivamente, do LDLc e do colesterol livre presentes na amostra, resultando na formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e outros substratos. Em seguida, por ação da enzima peroxidase, o H_2O_2 reage com o N, N-bis(4-sulfobutil)-m-toluidina disódio e forma um composto colorido. A intensidade da cor gerada é diretamente proporcional à concentração de LDLc na amostra. Os valores de referência para adultos maiores de 20 anos são inferiores a 130 mg/dL para o grupo de baixo risco e inferiores à 100 mg/dL para o grupo de risco intermediário (SBC, 2017).

4.7.4. Determinação dos triglicérides

A determinação dos TG foi realizada utilizando o produto Bioclin® triglicérides monoreagente (Ref. K117). Nesse teste, as enzimas lipases, glicerol quinase e glicerol fosfato oxidase dihidroxiacetona catalisam a decomposição, respectivamente, dos TG, glicerol e glicerol-3-fosfato presentes na amostra,

resultando na formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e outros substratos. Em seguida, por ação da enzima peroxidase, o H_2O_2 reage com a 4-aminoantipirina e o p-clorofenol e forma um composto colorido. A intensidade da cor gerada é diretamente proporcional à concentração de TG na amostra. Os valores de referência desejáveis para adultos maiores de 20 anos é inferior à 150 mg/dL (com jejum) e inferior à 175 mg/dL (sem jejum) (SBC, 2017).

4.7.5. Determinação do colesterol VLDL e colesterol não-HDL

O VLDLc foi calculado pela fórmula de Martin “VLDLc = TG/x”. Em que o divisor (x) assume diferentes valores, variando de 3,1 a 11,9, de acordo com os valores de TG e não-HDLc (Martin *et al.*, 2013). Já o colesterol não-HDL foi calculado pela fórmula “não-HDLc = CT – HDLc” sugerida pela Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose de 2017 (SBC, 2017).

4.8. Avaliação do metabolismo lipídico

4.8.1. Desenvolvimento do protocolo de ELISA para detecção da PCSK9

Com o objetivo de desenvolver um protocolo ELISA adequado para a detecção de PCSK9 na população estudada e aumentar a eficiência do protocolo disponibilizado pela fabricante do produto utilizado neste trabalho (*Human Proprotein Convertase 9/PCSK9 DuoSet – DY3888*, R&D Systems®), foram realizados testes para otimizar o protocolo da R&D Systems®. A curva de calibração também foi analisada a fim de assegurar que as concentrações das amostras estivessem dentro do intervalo de detecção do ensaio (0–8000 pg/mL). As etapas do desenvolvimento do novo protocolo foram descritas no **APÊNDICE III**.

4.8.2. Determinação da concentração da PCSK9

A determinação das concentrações plasmáticas de PCSK9 foi realizada por meio do ensaio ELISA do tipo sanduíche (R&D Systems®), de acordo com o protocolo padronizado nas condições do laboratório de Bioquímica da FAFAR/UFMG, em amostras de plasma anticoagulado com heparina.

4.8.2.1. Sensibilização e bloqueio da microplaca

Microplacas de poliestireno (Costar® Ref. 2592) foram sensibilizadas com 100 µL/poço de anticorpo monoclonal de captura previamente diluído. A diluição do anticorpo de captura foi realizada na concentração de 2 µg/mL em solução de tampão fosfato salino (PBS). A solução de PBS contém cloreto de sódio 137 mM, cloreto de potássio 2,7 mM, fosfato de sódio dibásico 8,1 mM e fosfato monobásico de potássio 1,5 mM em água deionizada. Após incubação à 4°C *overnight*, os anticorpos não ligados foram removidos por meio de três lavagens sucessivas. As lavagens foram realizadas utilizando-se, em cada poço da placa, 400 µL de solução de PBS contendo 0,05% de Tween 20 (PBS/Tween), utilizando a lavadora de microplacas (Biochrom ASYS Atlantis 2®). Em seguida à lavagem, foi feito o bloqueio adicionando a cada poço da microplaca 300 µL de solução de bloqueio contendo 1% de albumina sérica bovina (BSA) diluída em PBS (PBS/BSA 1%) e, posteriormente, incubação por duas horas à temperatura ambiente (20°C). Após a incubação, a solução de bloqueio foi desprezada e a microplaca foi submetida a três lavagens com PBS/Tween, utilizando a lavadora de microplacas (Biochrom ASYS Atlantis 2®).

4.8.2.2. Realização do ensaio

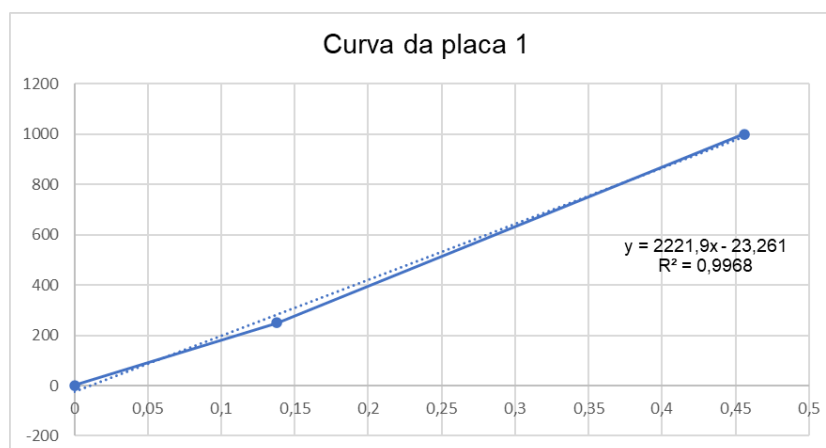
As amostras de plasma anticoagulado com heparina foram diluídas 50 vezes com solução de PBS contendo 0,1% de BSA (PBS/BSA 0,1%) antes de iniciar o ensaio. O padrão (Padrão PCSK9 Humana Recombinante – R&D Systems®) foi reconstituído conforme instruções do fabricante, obtendo-se uma solução com concentração inicial de 8000 pg/mL de PCSK9. Após a reconstituição, foram realizadas diluições seriadas dos padrões para que fossem obtidos sete pontos de calibração, com a concentração de nível mais elevado de 8000 pg/mL de PCSK9. O cada ponto da curva foi determinado em duplicata.

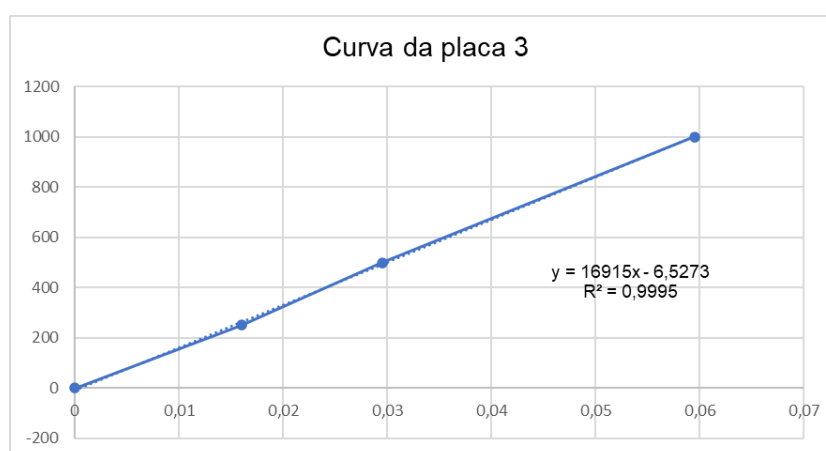
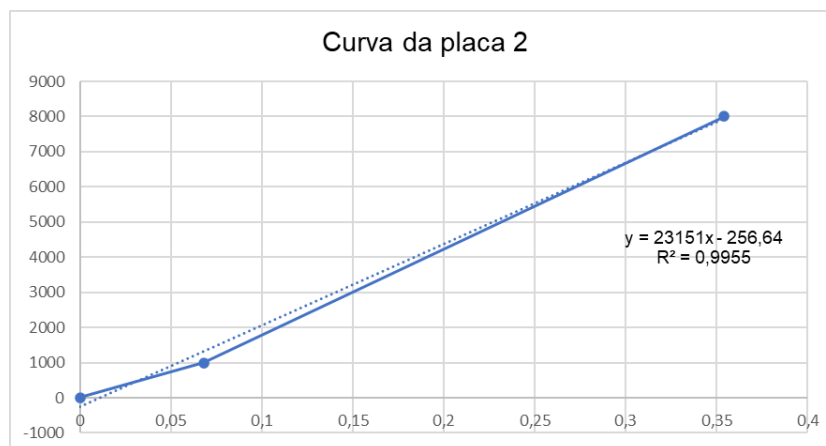
Em seguida, 100 µL das amostras diluídas ou dos padrões diluídos foram adicionados a cada um dos poços da microplaca, que foi incubada à temperatura ambiente (20°C) por duas horas. Seguindo-se à incubação, foram realizadas lavagens sucessivas com o objetivo de retirar os antígenos que não se ligaram ao anticorpo adsorvido na microplaca. Cada um dos poços da microplaca foi lavado três vezes com 400 µL de PBS/Tween utilizando a lavadora de microplacas (Biochrom ASYS Atlantis 2®). A etapa subsequente do ensaio consistiu na adição de 100 µL de anticorpo biotilado, diluído em solução

PBS/BSA 0,1% (100µg/mL), a cada um dos poços de reação e incubação à temperatura ambiente (20°C) por duas horas. Após a incubação, foram realizadas três lavagens com PBS/Tween, utilizando a lavadora de microplacas (Biochrom ASYS Atlantis 2®), com o objetivo de retirar os anticorpos de detecção que não se ligaram ao complexo antígeno-anticorpo de captura adsorvido à microplaca. Para a revelação da reação foram adicionados a cada poço da microplaca 100µL do conjugado estreptavidina-horseradish peroxidase (HRP) (R&D Systems® – 890803) diluído 200 vezes em PBS/BSA 0,1%, seguida de incubação à temperatura ambiente (20°C) por 20 minutos.

Em seguida, 100µL do substrato TMB (Scienco® – DY999) foi adicionado a cada poço da microplaca, que foi incubada à temperatura ambiente (20°C) por 20 minutos e ao abrigo da luz. A reação enzimática foi interrompida pela adição de 50µL de ácido sulfúrico 0,5M. A intensidade da cor produzida foi medida espectrofotometricamente, utilizando um leitor de microplacas, em 450nm (comprimento primário) e 630nm (comprimento secundário) e era proporcional à concentração de PCSK9 no plasma. A concentração de PCSK9 de cada amostra foi obtida interpolando-se a absorbância lida em uma curva de calibração (**Figura 10**), conforme orientação do fabricante.

Figura 10 – Curvas de calibração do ensaio de dosagem da PCSK9





4.9. Análises estatísticas

Os dados foram analisados empregando-se o programa SPSS versão 26. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. A comparação das variáveis entre os grupos MN e MP foi realizada pelo teste *t-Student* para aquelas com distribuição paramétrica e pelo teste de Mann-Whitney para as variáveis de distribuição não-paramétrica. As variáveis categóricas foram analisadas pelo teste Qui Quadrado de Pearson. Foi considerado significativo o valor de $p \leq 0,050$.

4. CAPÍTULO 1

BRAZILIAN COHORT STUDY PREECLAMPSIA AND LATENT RISKS AFTER DELIVERY (PERLA-Brasil): Objectives and Design

Abstract

Many high-income countries have seen large reductions in the incidence of preeclampsia in recent decades. In contrast, this trend has not been observed in many low- and middle-income countries. In light of this, understanding the lifelong health outcomes of women who develop preeclampsia is crucial to help stakeholders in the development of health policies for these women. The Brazilian Cohort Study Preeclampsia and Latent Risks After Delivery (PERLA-Brasil) aims to contribute relevant information with respect to the development and progression of clinical and subclinical cardiovascular diseases in women 6-15 years after preeclampsia. In this report, the authors delineate the study's objectives and principal methodological features. The baseline examination (2022–2023) included detailed interviews, clinical and anthropometric examinations, blood and urine collection. Long-term biologic sample storage will allow investigation of biomarkers that may predict cardiovascular diseases. Additionally, telephone surveillance will be scheduled throughout the study.

Keywords: Preeclampsia; Hypertension; Cardiovascular risk; Maternal mortality; Pregnancy; Epidemiologic methods; Cohort studies.

INTRODUCTION

Preeclampsia (PE) is a serious disorder that can affect all the organs in the body. It usually develops after 20 weeks of pregnancy and frequently near term. Although new-onset proteinuria is a common feature, preeclampsia may also manifest in some women without proteinuria, accompanied by hypertension and other clinical signs or symptoms [1]. In cases where proteinuria is absent, women are diagnosed with preeclampsia if they present with any of the following severe features: thrombocytopenia, impaired liver function, severe persistent right upper quadrant or epigastric pain, renal insufficiency, pulmonary edema, or new-onset headache unresponsive to acetaminophen and not accounted for by alternative diagnoses or visual disturbances [1].

In the general population the prevalence of PE is 2–6% [2] and it is one of the leading causes of maternal mortality and morbidity in Brazil and worldwide [3,4].

PE pathophysiology involves inadequate placental perfusion, accompanied by oxidative stress and the release of soluble placental factors into the maternal circulation. This cascade of events triggers an exaggerated inflammatory response and endothelial lesion, ultimately leading to the clinical manifestations of the disease [5].

Currently, therapeutic approaches remain limited to blood pressure management, seizure prevention, and the prophylactic administration of low-dose acetylsalicylic acid. Recent studies, however, have highlighted an increased incidence of cardiovascular diseases (CVD) in women with a history of preeclampsia [6–8].

CVD are the leading cause of death among women worldwide [9]. Although overall mortality rates from CVD have declined in recent years, there has been a significant increase among women under the age of 65 [10]. One contributing factor is the gap in women's health care guidelines [11].

Despite the recognition that a history of PE is a risk factor for the development of CVD and their outcomes, no follow-up strategy has yet been defined for these women to prevent the onset of such conditions. Furthermore, the optimal timing for initiating protective measures remains undefined [11].

In clinical practice guidelines addressing the risk of CVD after PE, many postpartum recommendations are based on general strategies for the broader population aimed at reducing CVD risk. These include lifestyle interventions and regular monitoring of risk factors such as blood pressure, glucose, and cholesterol [12].

While these recommendations are effective in reducing CVD risk in the general population and are therefore valuable in the absence of evidence specifically tailored for postpartum women [13,14], the significant incidence of chronic hypertension and other CVD in women after PE underscores the need for personalized guidelines. Ongoing clinical trials are assessing the effectiveness of interventions specifically designed for women with a history of PE [13–16].

Identifying women at risk and standardizing prevention policies depend on understanding the mechanisms through which PE impacts the cardiovascular

system. The intersection between a history of preeclampsia and cardiovascular diseases remains unclear [8,17]. There is strong evidence suggesting that the endothelial lesion occurring during PE do not fully resolve after delivery [18] and, as stated by Muijsers [19], “PE may be considered a first cardiovascular event that requires secondary prevention and appropriate follow-up”.

Although the increasing number of studies highlighting the persistence of endothelial lesion years after PE, few studies have investigated subclinical markers that identify this condition.

A major limitation of studies on cardiovascular risk after PE is that most have assessed populations with pre-existing risk factors. PE and DCV share many common risk factors, including chronic hypertension, diabetes, obesity, kidney disease, and metabolic syndrome, which can be confounders in the interpretation of results.

The success of selecting participants without characteristics that may be confounding factors depends largely on the care taken in the selection process. Therefore, a thorough medical history is essential to identify any evidence in the woman's past history that could indicate potential risk factors. In the present study, a constant concern was to ensure the eligibility of participants by strictly adhering to the exclusion criteria.

Young women with a history of PE typically do not exhibit clinical symptoms of cardiovascular disease, likely due to their age. Our hypothesis is that these women may experience subclinical conditions (latent), in which biological markers are altered prior to the onset of clinical symptoms. In this context, endothelial lesion may serve as the link between a history of PE and an increased risk of future cardiovascular disease development.

Accordingly, we are conducting a retrospective cohort study, the Brazilian Cohort Study Preeclampsia and Latent Risks After Delivery (in Portuguese, Pré-eclâmpsia e Riscos Latentes Após o Parto – PERLA-Brasil), that is focused on the risk of CVD in Brazilian women with PE history. This study may contribute to the developing of tools to identify elevated cardiovascular risk in the subclinical phase, optimizing management strategies for women post-preeclampsia. Here we describe the objectives and main methodological aspects of this study.

MATERIALS AND METHODS

The main study objectives of PERLA-Brasil study are to investigate blood markers associated with genetic and immunological profiles, as well as hemostatic, biochemical, and angiogenic factors, in women 6 to 15 years after experiencing PE during pregnancy. These markers will be assessed for their possible associations with subclinical and clinical outcomes.

Study design

PERLA-Brasil is a retrospective cohort study of 205 women from Belo Horizonte (Minas Gerais, Brazil) and its metropolitan area: 103 with PE history (PE) and 102 with normotensive pregnancies history (NPE).

Study population: recruitment and sample size

The participants were invited to collaborate with the study via phone calls, letters and social networks. We managed to contact these women through data from previous studies developed by our research group [20,21] and a database at the Julia Kubitschek Hospital (Belo Horizonte, Brazil) (CAAE: 46792921.3.3002.5119). Additionally, our project and contact information was provided through radio advertisements and through a broadcast list of announcements via UFMG's email. A total of 1641 women were contacted for the study. Of these, 1082 met the inclusion criteria. However, only 205 agreed to participate and attended the Faculty of Pharmacy (FAFAR) at Federal University of Minas Gerais (UFMG).

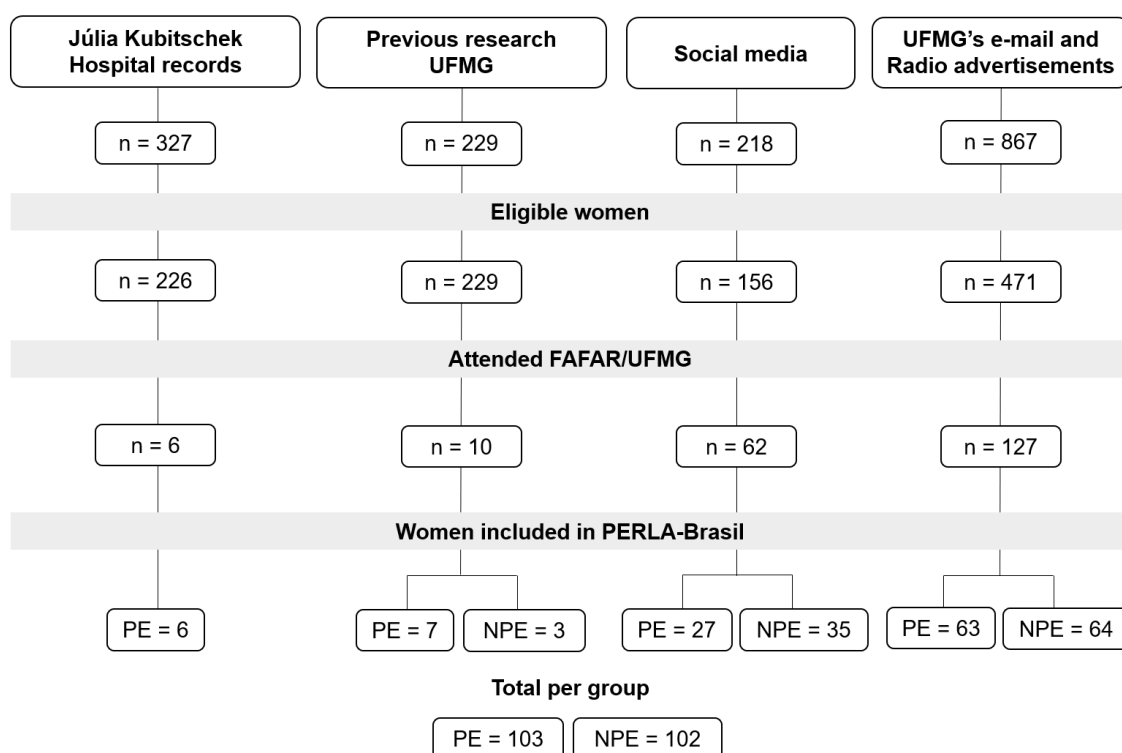
The initial recruitment targeted women who had participated in a study conducted by the FAFAR/UFMG research group between 2008 and 2011. A total of 229 women were contacted using various strategies, including phone calls, letters, and searches on social media. Among those reached, only 10 attended FAFAR to participate in clinical assessments, examinations, and interviews.

Given the challenges in locating these participants and the low initial adherence, the recruitment strategy was expanded to include the analysis of 327 medical records of women who had experienced PE during the same period, documented at Hospital Júlia Kubitschek. After a thorough review of inclusion and exclusion criteria, 226 medical records of women with a history of PE meeting the inclusion

criteria were identified. Phone contact attempts were made, but only 6 women agreed to participate and attended FAFAR/UFMG.

To address these limitations, recruitment strategies were further expanded through outreach on platforms such as Instagram, Facebook, and LinkedIn, radio announcements, e-mails distributed by UFMG, and posters placed in strategic locations. These efforts resulted in 867 women expressing interest in participating in the study. Among these, 471 met the inclusion criteria. However, only 127 attended FAFAR/UFMG to undergo the required examinations and interviews necessary for the study. Our sample includes volunteers (92% of the final sample) and actively recruited participants (8%) (Figure 1).

Figure 1 - Process of constructing the population of Brazilian Cohort Study Preeclampsia and Latent Risks After Delivery (PERLA-Brasil), 2022-2023



FAFAR: Faculty of Pharmacy; PE: Women with preeclampsia history; NPE: Women with normotensive pregnancies history; UFMG: Federal University of Minas Gerais.

The sample size was determined considering a statistical power level of 99%, a Type 1 error of 0.05 and the variance of low-density lipoprotein cholesterol (LCLc) obtained from the of the PERLA-Brasil study database, which was one of the main relevant variables related to cardiovascular risk, according to the Society

Brazilian Council of Cardiology (SBC) [22]. Based on these parameters, the required sample size was calculated to be 158 women, with 79 in each group.

Analysis of inclusion and exclusion criteria

We analyzed the medical records, biochemical tests at the time of pregnancy and prenatal/childbirth follow-up records of women with history of PE with severity criteria as well as NPE and selected the participants to be included in the study, according to the inclusion and exclusion previously established criteria. The entire amount of data was collected from medical records. Women who did not present a prenatal card and/or no discharge summary were not included in this study.

Inclusion criteria

Women who became pregnant between January 1st, 2008 and December 31, 2017 and were over 18 years old at the time of pregnancy.

PE group

This group included women with history of PE with severity criteria. The definition of PE was based on the bulletin of the ACOG (ACOG, 2019): new onset elevation of blood pressure (BP) ($BP \geq 160/110$ mmHg) at least four hours apart at rest, after 20 weeks of pregnancy and before 12 weeks postpartum with evidence of end-organ damage such as proteinuria and/or clinical symptoms and signals (thrombocytopenia, abnormally elevated blood concentrations of liver enzymes, renal insufficiency, headache, visual disturbances, abdominal pain, nausea, and vomiting). Proteinuria was defined as ≥ 300 mg/24 hours, and/or in a dipstick reading of 2+, and/or protein/creatinine ratio ≥ 0.3 . Only women who met the severity criteria of PE were included in this study.

NPE group

The NPE group included women who had BP $< 120/80$ mmHg during pregnancy/pregnancies, without any suspicion of PE, gestational hypertension, chronic hypertension or another high-risk prenatal.

Exclusion criteria

PE e NPE group

Coagulation disorders, autoimmune diseases, cancer, diabetes, and chronic hypertension during or before pregnancy.

Data collection

Recruitment, interview and examination occurred from February, 2022 to August, 2023. Eligible women who agreed to participate signed a consent form, underwent an interview, and had blood and urine samples collected at the FAFAR/UFGM. Telephone surveillance and new exams may be scheduled throughout the study.

During the visit at FAFAR/UFGM, we collected sociodemographic data, obstetrics, family disease history, lifestyle behavior, current medication use and health conditions. The criteria to assess chronic diseases diagnosis at the time of the study was the continuous use of medications prescribed for these conditions. The main components of Interviews are presented in Table 1.

Table 1 - Components of Interviews in Brazilian Cohort Study Preeclampsia and Latent Risks After Delivery (PERLA-Brasil), 2022-2023

Questionnaire	Variables
Sociodemographic characteristics	Age and race/ethnicity
	Civil status
	Nationality
	Place of birth
	Educational and occupational history
	Address
Health and medical history	Telephone number and e-mail address
	Medical history of cardiovascular illnesses, diabetes, kidney disease, liver disease, coagulation disorders, cancer, chronic hypertension and other selected chronic diseases and medical procedures of interest
	Blood group
Obstetric background	Number of pregnancies
	Occurrence of multiple pregnancy
	Year of pregnancies
	Illnesses during pregnancies

	Medications used during pregnancies
	Type of delivery
	Interval between births
	Number of fathers
	Living children
	Baby weight
	Baby sex
	Premature birth
	Pregnancy outcome
Signs and symptoms presented during pregnancy	Pressure $\geq 160/110$ mmHg (two episodes)
	Pulmonary edema
	Headache unresponsive to medication
	Epigastric pain
	Scotoma
	Proteinuria
	Thrombocytopenia
	Serum creatinine greater than 1.1 mg/dL
	Increase in transaminase concentration to twice the normal concentration
Risk factors presented during pregnancy	Pre-eclampsia in previous pregnancy
	Family history of pre-eclampsia
	Primigravida
	Primipaternity
	Chronic kidney disease
	Chronic hypertension
	Extreme age (≤ 18 or ≥ 35 years)
	Long interval between pregnancies (> 10 years)
	Multiple pregnancy
	Blood group AB
	Non-white ethnicity
	Diabetes mellitus
	Body Mass Index $\geq 35\text{kg/m}^2$
Reproductive health	Menopause

Psychosocial factors during pregnancy	Contraceptive use
	Pregnancy planning
	Support network
	Work
	Relationship with baby's father
Food consumption	Support with caring for other children (if had children)
	Feelings about pregnancy
	Food frequency questionnaire
	Vitamin/dietary supplements
	Food allergies
Smoking	Bowel function
	Past and current cigarette smoking, exposure to secondhand smoke
Alcohol consumption	Usual type and frequency of intake; drinking patterns
Drugs consumption	Usual type and frequency of intake
Medication use	Prescription and nonprescription drugs, and other medications taken in the past month

A comprehensive set of examinations and measurements is carried out. Trained researchers conducted all study procedures and the following data were collected using standard equipment and techniques: blood pressure (BP) (millimeters of mercury), body weight (kilograms), height (centimeters), body fat percentage, body mass index (kilograms/metre²) and waist, abdomen and hip circumference (centimeters). BP was measured once using the Smartpro Q-400 TechLine® automated device on their wrist [24]. Measurements were taken in the sitting position 10 min after the women arrived. A calibrated electronic bioimpedance balance (Cadence Smart Care BAL200®) was used to obtain weight and fat percentages of women wearing light clothes and without shoes [25]. Body mass index was calculated using the formula “ $IMC = \text{weight}/\text{height}^2$ ” and waist, abdomen and hip circumference waist, abdomen and hip circumference were measured using a tape measure according to the guidelines of anthropometry [25].

PERLA-Brasil also investigates biochemical factors. Blood samples (12 mL) are collected by venipuncture without fast. Samples include heparin, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and citrate plasma and serum without anticoagulant for measures. EDTA-anticoagulated blood was used to perform a complete blood count, glucose and glycated hemoglobin immediately after collection. The serum was used to analyze glucose, total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol, low density lipoprotein cholesterol, triglycerides, very low-density lipoprotein, non-high density lipoprotein cholesterol, creatinine, gamma-glutamyltransferase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and uric acid.

A 4-hour urine sample was collected for determination of urobilinogen, glucose, ketones, bilirubin, protein, nitrite, pH, blood, density and leukocytes, besides sediment analysis (if necessary) immediately after collection. Table 2 shows the components of laboratory determinations performed on all PERLA-Brasil participants. All analyses are performed at the UFMG.

Table 2 – Components of Baseline Laboratory Measurements in Brazilian Cohort Study Preeclampsia and Latent Risks After Delivery (PERLA-Brasil), 2022-2023

Analyte	Technical Reference
Whole blood cell count	Automatic method (Yumizen H500®)
Glucose	Reagent strips (Glicoo Easyfy®)
	Enzymatic colorimetric assay (Bioclin®)
Total cholesterol	Enzymatic colorimetric assay (Bioclin®)
High density lipoprotein cholesterol	Enzymatic colorimetric assay (Bioclin®)
Low density lipoprotein cholesterol	Enzymatic colorimetric assay (Bioclin®)
Triglycerides	Enzymatic colorimetric assay (Bioclin®)
Very Low-Density Lipoprotein	Martin equation (Martin <i>et al.</i> , 2013)
Non-High density lipoprotein cholesterol	Martin equation (Martin <i>et al.</i> , 2013)
Creatinine	Enzymatic colorimetric assay (Jaffé) (Bioclin®)
Gamma-glutamyltransferase	Enzymatic colorimetric assay (Bioclin®)
Aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase	Enzymatic colorimetric assay (Bioclin®)

Uric acid	Enzymatic colorimetric assay (Bioclin®)
Glycated hemoglobin (hemoglobin A1c)	Ion Exchange Chromatography (Gold Analisa®)
Chemical examination of urine	Reagent strips
Sedimentoscopy	Bright-field microscopy

Sample treatment

EDTA, heparin plasma and serum without anticoagulant

EDTA, heparin and serum samples were obtained by centrifugation (4500 rpm, 10 minutes, 4°C) (Heraeus Multifuge ThermoFisher Scientific X1R centrifuge®) within two hours after blood collection. Approximately 12 aliquots with 500 µL per participant are prepared for storage in freezers at -80°C at Luci Dusse's Biochemistry Laboratory (FAFAR/UFMG).

Citrate plasma and urine

Citrate plasma and urine supernatant were obtained by centrifugation (3000 G, 15 minutes, 4°C) (Heraeus Multifuge ThermoFisher Scientific X1R centrifuge®) within two hours after collection. Approximately 4 aliquots of plasma with 500 µL and 2 aliquots of urine supernatant with 2000 µL per participant are prepared for storage in freezers at -80°C at Luci Dusse's Biochemistry Laboratory (FAFAR/UFMG).

In one citrate tube, 1500 µL of plasma was collected. The citrated plasma was centrifuged (5720 rpm, 15 minutes, 4°C) (Sigma 2K15 centrifuge®). Approximately 1 aliquot of plasma with 1200 µL per participant are prepared for storage in freezers at -80°C at Luci Dusse's Biochemistry Laboratory (FAFAR/UFMG).

Study management

Professor Patrícia Nessralla is responsible for the overall conduct of the study. Its members include study investigators, funding agencies, and external consultant researchers. Study investigators have developed operations manuals and were responsible for training staff. A database was developed for data entry and

management. One repository has been created for long-term storage of biologic samples.

Quality assurance

Training of interviewers responsible for the clinical and laboratory examinations are performed according to the study protocol. The standardized study procedures are detailed in the PERLA-Brasil operations manuals.

Data management

Data is stored on the project drive, managed by the professor responsible for conducting the study. Specific databases for analyses can then be created from the central database.

Ethical issues

This study was approved by the Research Ethics Committee of the UFMG (CAAE: 4887721.0.0000.5149). In addition to the usual informed consent, participants are also asked to consent to the storage of biologic samples.

Notification of study results and referral of participants

Participants receive a brief report at the end of the clinic visit, including data on height, weight, blood pressure, body fat percentage, waist and hip circumference, urine routine test, complete blood count and other routine test results. “Alert” findings, which require clinical referral, are reported to the participants.

DISCUSSION

PERLA-Brasil has the potential to provide important new information about the development and progression of CVD in women with PE history. The study aims to uncover early disease markers and subclinical manifestations that can inform preventative strategies.

The groups did not differ in terms of current age, with an average age of 40 years in both groups. Enrolling participants at this relatively young age increases the likelihood of identifying women who are in the early stages of CVD [27], which is essential for developing targeted prevention strategies. Additionally, this approach is particularly advantageous in minimizing survival bias that can be

prevalent in older cohorts, where the effects of disease are often more advanced [28].

The availability of various stored biologic specimens — plasma (citrate, heparin, EDTA), serum, and urine — enhances the ability to investigate not only traditional risk factors but also novel predictors of CVD. These investigations can proceed not only within the current organizational structure of the project but also through ancillary studies.

By identifying key risk factors and understanding the mechanisms through which PE contributes to long-term cardiovascular risk, PERLA-Brasil will play a pivotal role in shaping future health interventions tailored to women who have experienced PE. These insights will be especially relevant in the context of Brazil's evolving demographic and epidemiological landscape, where chronic diseases, particularly CVD, are becoming increasingly prevalent [29].

Despite its strengths, there are operational challenges that must be acknowledged. Some measures (e.g., Doppler Ultrasonography) were strongly considered for the baseline examination, however cost or operational aspects impeded their implementation. While this limitation may impact certain analyses, they do not detract from the overall value of the study. In the future, additional assessments may incorporate these and other measures, further strengthening the study's ability to evaluate outcomes.

In sum, PERLA-Brasil will permit innovative investigation of multiple exposures and outcomes and will assist in the establishment of prevention and control policies aimed at reducing the CVD burden in Brazil and other low and middle-income countries.

REFERENCES

- [1] ACOG. Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. *Obstetrics and Gynecology* 2020;135:e237–60. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003891>.
- [2] Stuart JJ, Gray KJ, Rich-Edwards JW, Roberts JM. Epidemiology of Hypertensive Disorders in Pregnancy. *Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy*, Elsevier; 2022, p. 21–43. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818417-2.00023-3>.

- [3] ACOG. ACOG Practice Bulletin No. 204: Fetal Growth Restriction. *Obstetrics & Gynecology* 2019;133:e97–109. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003070>.
- [4] Giordano JC, Parpinelli MA, Cecatti JG, Haddad SM, Costa ML, Surita FG, *et al.*, The Burden of Eclampsia: Results from a Multicenter Study on Surveillance of Severe Maternal Morbidity in Brazil. *PLoS One* 2014;9:e97401. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097401>.
- [5] Chappell LC, Cluver CA, Kingdom J, Tong S. Pre-eclampsia. *The Lancet* 2021;398:341–54. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32335-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32335-7).
- [6] Behrens I, Basit S, Melbye M, Lykke JA, Wohlfahrt J, Bundgaard H, *et al.*, Risk of post-pregnancy hypertension in women with a history of hypertensive disorders of pregnancy: nationwide cohort study. *BMJ* 2017;j3078. <https://doi.org/10.1136/bmj.j3078>.
- [7] Brouwers L, van der Meiden-van Roest AJ, Savelkoul C, Vogelvang TE, Lely AT, Franx A, *et al.*, Recurrence of pre-eclampsia and the risk of future hypertension and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 2018;125:1642–54. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.15394>.
- [8] Benschop L, Duvekot JJ, Roeters JE. Future risk of cardiovascular disease risk factors and events in women after a hypertensive disorder of pregnancy. *Heart* 2019;105:1273–8. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2018-313453>.
- [9] Virani SS, Alonso A, Aparicio HJ, Benjamin EJ, Bittencourt MS, Callaway CW, *et al.*, Heart Disease and Stroke Statistics—2021 Update. *Circulation* 2021;143. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000950>.
- [10] Arora S, Stouffer GA, Kucharska-Newton AM, Qamar A, Vaduganathan M, Pandey A, *et al.*, Twenty Year Trends and Sex Differences in Young Adults Hospitalized With Acute Myocardial Infarction. *Circulation* 2019;139:1047–56. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.037137>.
- [11] Thakkar A, Agarwala A, Michos ED. Secondary Prevention of Cardiovascular Disease in Women: Closing the Gap. *European Cardiology Review* 2021;16. <https://doi.org/10.15420/ecr.2021.24>.

- [12] Atkinson J, Simpson G, Walker SP, Tong S, Hastie R, Lindquist A. The long-term risk of cardiovascular disease among women with a history of hypertensive disorders of pregnancy: a systematic review of clinical practice guidelines. *BMC Cardiovasc Disord* 2023;23:443. <https://doi.org/10.1186/s12872-023-03446-x>.
- [13] Pinckard K, Baskin KK, Stanford KI. Effects of Exercise to Improve Cardiovascular Health. *Front Cardiovasc Med* 2019;6. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2019.00069>.
- [14] Yu E, Malik VS, Hu FB. Cardiovascular Disease Prevention by Diet Modification. *J Am Coll Cardiol* 2018;72:914–26. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.02.085>.
- [15] Berks D, Hoedjes M, Raat H, Duvekot J, Steegers E, Habbema J. Risk of cardiovascular disease after pre-eclampsia and the effect of lifestyle interventions: a literature-based study. *BJOG* 2013;120:924–31. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.12191>.
- [16] Lui NA, Jeyaram G, Henry A. Postpartum Interventions to Reduce Long-Term Cardiovascular Disease Risk in Women After Hypertensive Disorders of Pregnancy: A Systematic Review. *Front Cardiovasc Med* 2019;6. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2019.00160>.
- [17] Newstead J, von Dadelszen P, Magee LA. Preeclampsia and future cardiovascular risk. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2007;5:283–94. <https://doi.org/10.1586/14779072.5.2.283>.
- [18] Bellamy L, Casas J-P, Hingorani AD, Williams DJ. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: systematic review and meta-analysis. *BMJ Journal* 2007;335:974. <https://doi.org/10.1136/bmj.39335.385301.BE>.
- [19] Muijsers HEC, Roeleveld N, van der Heijden OWH, Maas AHEM. Consider Preeclampsia as a First Cardiovascular Event. *Curr Cardiovasc Risk Rep* 2019;13:21. <https://doi.org/10.1007/s12170-019-0614-0>.
- [20] Alpoim PN, Perucci LO, Godoi LC, Goulart COL, Dusse LMS. Oxidative stress markers and thrombomodulin plasma levels in women with early and late

severe preeclampsia. *Clinica Chimica Acta* 2018;483:234–8. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.04.039>.

[21] Alpoim PN, Gomes KB, Pinheiro M de B, Godoi LC, Jardim LL, Muniz LG, *et al.*, Polymorphisms in endothelial nitric oxide synthase gene in early and late severe preeclampsia. *Nitric Oxide* 2014;42:19–23. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2014.07.006>.

[22] SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Atualização da Diretriz Brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. vol. 109. Catasonho; 2017.

[23] ACOG. ACOG Practice Bulletin No. 202: Gestational Hypertension and Preeclampsia. *Obstetrics & Gynecology* 2019;133:1–1. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003018>.

[24] Muntner P, Shimbo D, Carey RM, Charleston JB, Gaillard T, Misra S, *et al.*, Measurement of Blood Pressure in Humans: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Hypertension* 2019;73. <https://doi.org/10.1161/HYP.0000000000000087>.

[25] Priscila Milene Angelo Sanches, Deise Bresan, Patrícia Vieira Del Ré. Guia Prático de Antropometria para adultos: técnicas, índices e indicadores. 2020.

[26] Martin SS, Blaha MJ, Elshazly MB, Toth PP, Kwiterovich PO, Blumenthal RS, *et al.*, Comparison of a Novel Method vs the Friedewald Equation for Estimating Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels From the Standard Lipid Profile. *JAMA* 2013;310:2061. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.280532>.

[27] Dhingra R, Vasan RS. Age As a Risk Factor. *Medical Clinics of North America* 2012;96:87–91. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2011.11.003>.

[28] Barry V, Klein M, Winquist A, Darrow LA, Steenland K. Disease fatality and bias in survival cohorts. *Environ Res* 2015;140:275–81. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.03.039>.

[29] Oliveira GMM de, Brant LCC, Polanczyk CA, Malta DC, Biolo A, Nascimento BR, *et al.*, Estatística Cardiovascular – Brasil 2023. *Arq Bras Cardiol* 2024;121. <https://doi.org/10.36660/abc.20240079>.

5. CAPÍTULO 2

**Women & Health****Preeclampsia beyond pregnancy: why follow-up of women matters?**

Submission ID	244482420
Article Type	Research Article
Keywords	Preeclampsia, Hypertension, Cardiovascular risk, Maternal mortality, pregnancy
Authors	Isabella Costa, Thaíse da Silva, Letícia Silva, Na a Paula Silva Ferreira, Camilla Márcia Paraguai, Cláudia Natália Ferreira, Luci Dusse, Jussara M ayrink, Patrícia Alpoim

For any queries please contact: peerreview@journals.tandf.co.uk

Note for Reviewers:

To submit your review please visit <https://mc.manuscriptcentral.com/wwah>

Preeclampsia beyond pregnancy: Why follow-up of women matter (a PERLA-Brazil study)?

Authors and their entities:

Isabella Macedo Costa¹; Thaíse Emilia Moreira da Silva¹; Letícia Gonçalves Silva¹; Ana Paula Silva Ferreira¹; Camila Márcia da Conceição Paraguai¹; Cláudia Natália Ferreira²; Luci Maria Sant'Ana Dusse¹; Jussara Mayrink³; Patrícia Nessralla Alpoim¹.

1. Department of Clinical and Toxicological Analysis, Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil;
2. Technical School, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil;
3. Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

Correspondence address:

1. Patrícia Nessralla Alpoim, patnessralla@yahoo.com.br; Faculty of Pharmacy, University of Minas Gerais, St. Professor Moacir Gomes de Freitas, room 4156 – B3, Pampulha, Belo Horizonte – MG, 31270-901, Brazil.

Author ORCIDs

Isabella Macedo Costa (<https://orcid.org/0000-0002-9919-1358>):

Correspondence address: mcostaisabella@gmail.com

Thaíse Emilia Moreira da Silva (<https://orcid.org/0000-0002-6378-2818>):

Correspondence address: thaiseemiliams@gmail.com

Letícia Gonçalves Silva (<https://orcid.org/0009-0000-3518-6632>):

Correspondence address: lets230@gmail.com

Ana Paula Silva Ferreira (<https://orcid.org/0009-0003-7281-5698>):

Correspondence address: anapsilvaferr@gmail.com

Camila Márcia da Conceição Paraguai (<https://orcid.org/0009-0006-7559-1599>):

Correspondence address: camillamarcia@gmail.com

Cláudia Natália Ferreira (<https://orcid.org/0000-0003-4545-6821>):

Correspondence address: ferreiracn@gmail.com

Jussara Mayrink (<https://orcid.org/0000-0001-5957-4365>):

Correspondence address: jussaramayrink@gmail.com

Luci Maria SantAna Dusse (<https://orcid.org/0000-0002-7484-1684>):

Correspondence address: lucidusse@gmail.com

Patrícia Nessralla Alpoim (<https://orcid.org/0000-0002-3602-2645>):

Correspondence address: patnessralla@yahoo.com.br

ABSTRACT

Brazilian Cohort Study of Preeclampsia: latent risks after pregnancy (PERLA-Brazil) is a retrospective cohort study including women with and without preeclampsia history, 6-15 years after pregnancy, aiming to identify the prevalence of metabolic syndrome. The following data were collected: blood pressure, body weight, height, body fat percentage, waist and hip circumference and lipid profile.

A total of 188 women were included: 86 with PE history and 102 with normotensive pregnancy. Our data showed that PE group had higher body mass index compared to normotensive pregnancy ($26.2 \pm 4.7 \text{ kg/m}^2$ vs $28.1 \pm 5.1 \text{ kg/m}^2$, $P=0.004$), as well as fat percentage ($32.0 \pm 8.5\%$ vs $35.2 \pm 8.6\%$, $P=0.008$), systolic blood pressure ($123.0 [14.1]$ mmHg vs $133.8 [19.5]$ mmHg, $P<0.001$), diastolic blood pressure ($81.1 [11.2]$ mmHg vs $90.0 [14.7]$ mmHg, $P<0.001$) and low-density lipoprotein ($90.4 [33.5]$ mg/dL vs $112.8 [35.9]$ mg/dL, $P<0.001$). Finally, a higher frequency of metabolic syndrome was detected in PE group (24.4% vs 12.0% , $P=0.027$; respectively).

Our data suggested that women who had PE showed a combination of CVD risk markers, and increase prevalence of MS. To mitigate the risk of subsequent chronic diseases, lifestyle modifications are recommended and along with more frequent follow-ups with a healthcare team.

Keywords: Preeclampsia; Hypertension; Cardiovascular risk; Maternal mortality; Pregnancy.

INTRODUCTION

Preeclampsia (PE) is a pregnancy-specific multisystem disorder characterized by the onset of hypertension on or after 20 weeks of gestation with proteinuria. In the absence

of it, the evidence of an organ impairment such as renal, liver, or neurological impairment is sufficient for the PE diagnosis ¹. PE affects 3-5% of pregnancies and is the major cause of maternal and neonatal morbidity and mortality. Evidence strongly suggests that PE contributes to maternal long-term cardiovascular disease (CVD) ². PE is associated with a 4-fold increased in future incident heart failure and a 2-fold increased risk of coronary heart disease, stroke, and death ³. In addition, the rate of PE has significantly expanded over the past decades. This is possibly due to the higher prevalence of risk factors associated with PE occurrence, such as diabetes, obesity, assisted reproduction technology, and advanced maternal age at pregnancy ⁴.

Several studies have shown that women with PE history may exhibit abnormal metabolic and cardiovascular profiles after delivery ⁵⁻¹⁰. PE and CVD have common underlying mechanisms such as dyslipidemia, inflammation, hypercoagulability, and insulin dysregulation ¹¹. These factors are also components of metabolic syndrome (MS), which is characterized by abnormal body fat distribution, insulin resistance, atherogenic dyslipidemia, and high blood pressure ¹².

Knowing the association among PE, MS, and CVD risks, several researchers have proposed to investigate MS in women with PE history at different intervals after delivery ^{6,13,14}. In some populations, a strong association was found between the personal history of PE and MS occurrence, increasing the risk of CVD and death in the first decade of life ³.

Fortunately, many high-income countries have seen large reductions in the incidence of PE in recent decades, but this has not been the case in many other low- and middle-income countries. However, it is important to know what happens to women who develop PE

throughout their lives to help stakeholders in the development of health policies for these women.

Therefore, we aimed to determine the prevalence of MS and clinical and biochemical markers of CVD in a cohort of women who had PE between 6 and 15 years previously and compare them with women who had a normotensive pregnancy.

METHODS

Study Design and Settings

PERLA-Brazil (The Brazilian Preeclampsia Cohort Study: latent risks after pregnancy) is a retrospective cohort study that aims to evaluate the lipid profile, clinical parameters related to the risk of CVD and the prevalence of MS in women 6–15 years after PE occurrence. This study was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais (CAAE: 4887721.0.0000.5149).

The participants were invited to collaborate with the study via phone calls, letters, and social networks. We managed to contact these women through previous studies developed by our research group^{15,16} and a database at the Julia Kubitschek Hospital (Belo Horizonte, Brazil) (CAAE: 46792921.3.3002.5119).

We analyzed the medical records of women with history of PE with severity criteria aligned with the ACOG bulletin¹⁷ (Supplementary Table 1) as well as normotensive pregnancies (NPE) and selected the participants to be invited, according to the inclusion and exclusion previously established criteria.

Inclusion criteria

Women who became pregnant between January 1st, 2008 and December 31, 2017 and were over 18 years old at the time of pregnancy.

Exclusion criteria

Coagulation disorders, autoimmune diseases, cancer, diabetes, and chronic hypertension during pregnancy.

The definition of PE was based on the recent bulletin of the American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) ¹⁸: new onset elevation of blood pressure (BP) ($BP \geq 160/110$ mmHg) at least four hours apart at rest, after 20 weeks of pregnancy and before 12 weeks postpartum with evidence of end-organ damage such as proteinuria and/or clinical symptoms (headache, visual disturbances, abdominal pain, nausea, and vomiting). Proteinuria was defined as ≥ 300 mg/24 hours, and/or in a dipstick reading of 2+, and/or protein/creatinine ratio ≥ 0.3 . Only women who met the severity criteria of PE were included in this study. The NPE group included women who had BP $< 120/80$ mmHg during pregnancy/pregnancies, without any suspicion of PE, gestational hypertension, chronic hypertension or another high-risk prenatal. The entire amount of data was collected from prenatal records. Women who did not present a prenatal card and/or no discharge summary were not included in this study.

The sample size of 158 women (with 79 in each group) was determined based on a power level of 99%, a type 1 error of 0.05 and in the variance of low-density lipoprotein cholesterol (LCLC) obtained from the database of the PERLA project, which was one of the main relevant variables related to cardiovascular risk, according to the Society Brazilian Council of Cardiology (SBC) ¹⁹.

Data collection

Recruitment occurred from February, 2022 to August, 2023. Eligible women who agreed to participate signed a consent form, underwent an interview, and had blood samples collected at the Faculty of Pharmacy/UFMG.

During the visit, we collected demographic data, obstetrics, family disease history, lifestyle behavior and current medication use and health conditions. We verified the information provided by consulting the medical records or biochemical tests at the time of pregnancy and prenatal/childbirth follow-up records brought by all women.

The criteria to assess chronic diseases diagnosis (HAC, diabetes and hypercholesterolemia) at the time of the study was the continuous use of medications prescribed for these conditions.

Additionally, the diagnosis of MS was defined by the presence of three or more of the following factors: (1) waist circumference ≥ 88 cm; (2) SBP ≥ 130 mmHg or DBP ≥ 85 mmHg or use of antihypertensive medication; (3) triglyceride (TG) level ≥ 150 mg/dL or receiving treatment for lipid control; (4) high-density lipoprotein cholesterol (HDLc) level < 50 mg/dL; (5) fasting plasma glucose level ≥ 100 mg/dL or receiving antidiabetic treatment or previous clinical diagnosis of diabetes²⁰.

Trained researchers conducted all study procedures and the following data were collected: blood pressure (BP) (mmHg), body weight (kilograms), height (centimeters), body fat percentage and waist and hip circumference (centimeters). BP was measured once using the Smartpro Q-400 TechLine® automated device on their wrist²¹. Measurements were taken in the sitting position 10 min after the women arrived. A calibrated electronic bioimpedance balance (Cadence Smart Care BAL200®) was used to obtain weight and fat percentages of women wearing light clothes and without shoes.

Laboratory methods

A venous blood sample (4 mL), obtained without fasting, was collected by venipuncture from each woman using vacuum tubes without anticoagulant. Serum samples were obtained by centrifugation (4500 x RPM, 10 min, 4°C) within two hours after blood

collection. Serum samples were aliquoted and stored at -80°C until assay. The lipid profile was analyzed by enzymatic colorimetric methods, using a kit from Bioclin® kits and standard calculations ²².

Data analysis

Data normality was assessed using the Shapiro-Wilk test. Demographic and obstetric characteristics were reported as means with standard deviations for normally distributed numerical data; as medians with interquartile ranges, for not normal distributed numerical data; and as percentages for categorical data. Differences between the analyzed parameters from women with PE history and women with normotensive pregnancies were assessed using the T-test for variables with a normal distribution and the Mann-Whitney test for non-normal distribution. For categorical data, Pearson's X² test was used. Linear regression was employed to analyze the relationship between the isolated effect of a positive history of PE and cardiovascular risk indicators (LDLc, SBP, DBP and MBP). The model was adjusted for potential confounding factors (PE history, age, body mass index (BMI) and use of antihypertensive) that may predict high values of LDLc, SBP, DBP, and MBP after delivery. Confounders were selected based on theoretical relevance and statistical significance. Results were reported as regression coefficients. Analyses were performed using R software, version 4.3.2. A p-value ≤ 0.050 was considered significant.

RESULTS

Demographics and obstetrics information

We included 188 women: 86 (45.8%) with PE history (PE) and 102 (54.3%) with normotensive pregnancies (NPE). The median time after delivery was approximately 10 years in both groups (P=0.146).

Demographics and obstetrics information are presented in Table 1. The groups did not differ in age, race, or parity. However, we observed that the PE group had lower educational level compared with the NPE group ($P=0.006$). Moreover, as expected, PE babies were born earlier than the NPE group ($P<0.001$).

Current participant data are presented in Table 2. From delivery to 2023, hypertension was the most common condition, with a prevalence of 30.2% among the PE group and 3.9% in the NPE group ($P<0.001$). Also, higher frequency of antihypertensive medication use was observed in the PE group than in the NPE group (29.1% vs 3.9%, respectively, $P<0.001$).

Furthermore, a higher frequency of MS was detected in the PE group than in the NPE group (24.4% vs 12.0%, respectively; $P=0.027$). However, no differences were observed in the occurrence of diabetes and hypercholesterolemia between the groups.

In terms of anthropometric measurements, the PE group had higher BMI, fat percentage, SBP, DBP, and MBP than the NPE group ($P=0.004$; $P=0.004$, $P<0.001$, $P<0.001$ and $P<0.001$, respectively). There was no difference in weight and waist-hip ratio between the two groups.

Biochemical characteristics of women at the time of recruitment

Table 3 summarizes the major biochemical features of women at the time of recruitment. In general, most biochemical parameters evaluated were similar in both groups, but the PE group presented increased LDLc levels compared to the NPE group ($P<0.001$). The reference values for lipid variables²³ are presented in Table 3.

Linear regression modeling was undertaken to explore major predictors of SBP, DBP, MBP and LDLc. The models were initially adjusted considering the relevant variables for the cardiovascular profile (SBP, DBP, MBP and LDLc) and their potential explanatory variables (PE history, age, use of antihypertensive medication and BMI). Subsequently, the obtained results were thoroughly examined and only the relationships that reached statistical significance ($P \leq 0.050$) and were deemed important for enhancing the understanding of results were selected for presentation. After adjusting for the PE history, age, use of antihypertensive and BMI, the PE group showed an increase in SBP, DBP, and MBP (6.4mmHg, 5.6mmHg and 5.9mmHg, respectively). The PE group also showed an increase of 23.4 mg/dL in LDLc levels, even after adjusting for age. All results are shown in Supplementary Table 2.

Discussion

Women's specific risk factors for cardiovascular disease are often overlooked, leading to underdiagnosis and undertreatment. The existing gap in cardiac care guidelines for women contributes to this problem²⁴. Therefore, gender-specific approaches are increasingly recognized in contemporary cardiac care²⁵.

This study showed an unfavorable clinical and lipid profile in the PE group, with changes in anthropometric characteristics such as elevated BMI, fat percentage, SBP, DBP, MBP, and LDL contributing to an increase in cardiovascular risk. Even after adjusting for age, antihypertensive use, and BMI, a history of PE remains an independent risk factor for elevated SBP, DBP, MBP, and LDL.

These factors are the most important contributors to CVD development²⁶. Previous studies have revealed that women who had PE face a higher risk of severe outcomes and death from CVD²⁷⁻³². In addition, it doubles the chance of developing atherosclerosis, a

disease in which LDL acts as a protagonist, depositing itself on the walls of blood vessels, consequently triggering an inflammatory cycle ^{3,33}.

Our data also demonstrate that, after delivery, the most frequently diagnosed diseases in the PE group were chronic hypertension. In line with our findings, a large study revealed that the risk of chronic hypertension occurrence is higher in women who had severe PE than in those who had normotensive pregnancies ³⁴. It is admitted that this health condition is a sign of future CVD and should be seen as an opportunity to adopt preventive measures that can reduce the risk of more serious outcomes later in life, as has already been shown in the literature ³⁵⁻³⁹.

This adverse clinical profile of women with a history of PE brings together components of MS (chronic hypertension, , adiposity, and elevated BMI, SBP, DBP, MAP and LDL). In fact, our data demonstrated that women with a PE history exhibited a higher prevalence of MS than those with normotensive pregnancy. The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III, a guideline focused on lipid control, identifies MS as a secondary target, after the primary (LDL), for cardiovascular risk reduction therapy to prevent the development of CHD in adults ⁴⁰, both presented in women with PE history, according to our results.

Drost *et al.*, (2012) demonstrated that 10 years after delivery, the prevalence of MS in women with PE history was two times higher than that in women who had normotensive pregnancy. Forest *et al.*, (2005) found a three – to fivefold increased risk 8 years after PE and Berends *et al.*, (2008) also found a higher prevalence of MS after the same period. These findings highlight the importance of screening women with PE history, aiming to identify those with MS who are at a higher risk of CVD occurrence.

It is worth highlighting that the set of cardiovascular risk factors, as occurs in MS, provides a more effective approach to the early identification of women at high cardiovascular risk than the isolated analysis of traditional risk factors ⁴¹. Furthermore, anthropometric measurements and lipid profiles are easy to implement and affordable, and can be efficiently incorporated into clinical practice.

Both groups showed similar TC, HDLc, TG, VLDLc, and non-HDLc levels. These findings agree with previous studies that evaluated women roughly 7-10 years after PE concerning TC, HDLc, and TG levels ^{7,42,43}. Regarding LDLc, some studies also found similar levels of LDLc in the two groups ^{7,42,44}. On the other hand, some studies found higher levels of TG and lower levels of HDLc in women with PE history ^{5,8,45}. However, some factors can explain these differences in lipid profile, such as ethnicity and PE classification. For example, Bokslag *et al.*, included only women with early-onset PE with pathophysiology and different long-term outcomes.

No differences were found in waist-hip ratio and weight between the groups, but waist circumference measurements were higher in the PE group. It is a relevant finding, knowing that abdominal fat distribution is a risk factor for CVD and hypertension ⁴⁶. A previous study enrolling Brazilian women 10 or more years after pregnancy also showed increased waist circumference in women with PE history compared with normotensive pregnant. However, the waist-to-hip ratio did not differ between the groups ⁴⁷.

The educational level was higher in women with a history of normotensive pregnancy. Some studies have demonstrated a correlation between higher levels of education and better health outcomes, especially regarding cardiovascular risk, suggesting that education can directly influence lifestyle habits and health care ^{48,49}. Furthermore, education alone does not represent the socioeconomic status of the population. Other

determinants such as income, occupation, and social status play an important role in determining access to resources, health services and opportunities for health promotion⁵⁰.

One strength of this study is that all pregnancy-related data were obtained through medical records and were not requested from participants, ensuring no recall bias. However, this study has some limitations. Physical activity data were not collected, which prevented the assessment of the effect of exercise training on the metabolic profile of the women analyzed. Therefore, further studies that include this variable are necessary. Furthermore, clinical and biochemical assessments were performed cross-sectional and may not have accurately represented the longitudinal changes in markers and clinical characteristics of the compared groups.

A number of studies have evaluated women in extreme periods, either close to delivery or more than 20 years after delivery^{28,30–32,43,51}. Besides, the time range of 6-15 years after PE is consistent with the period in which there is greater conflict among authors' conclusions. During this time frame, women have a higher risk of complications and death compared with the second decade of life after delivery. This may be because of the higher absolute risk in the control group during longer follow-up periods (ie, >10 years)³. Therefore, other studies similar to this one and with large samples are needed to propose interventions before the occurrence of serious illnesses and outcomes.

Our data suggest that PE is an important risk factor for the development of CVD. Women who had PE showed a combination of CVD risk markers and increased prevalence of MS. Surprisingly, these women were not aware of their health condition before collaborating with this study. There is a gap in care between pregnancy and long-term healthcare. Lifestyle changes should be recommended to women who have experienced PE to prevent

the onset of other chronic diseases with serious outcomes in the subsequent years. An update to preventive health programs and Cardiovascular Care Guidelines is needed. This recommendation is particularly important considering that the identified gap in care between pregnancy and long-term healthcare has been identified as a barrier to the prevention of CVD in women with prior PE ^{52,53}. Lastly, it is advisable that at least these women undergo more frequent follow-ups with a healthcare team.

Funding

This work was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq; and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES.

Declaration of Competing Interest

None of the authors have any conflicts of interest to declare.

REFERENCES

1. Brown MA, Magee LA, Kenny LC, *et al.*, The hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis & management recommendations for international practice. *Pregnancy Hypertens.* 2018;13:291-310. doi:10.1016/j.preghy.2018.05.004
2. Brown MC, Best KE, Pearce MS, Waugh J, Robson SC, Bell R. Cardiovascular disease risk in women with pre-eclampsia: systematic review and meta-analysis. *Eur J Epidemiol.* 2013;28(1):1-19. Doi:10.1007/s10654-013-9762-6
3. AHA. Preeclampsia and Future Cardiovascular Health: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* 2017;10(2). doi:10.1161/CIRCOUTCOMES.116.003497
4. Wallis AB, Saftlas AF, Hsia J, Atrash HK. Secular Trends in the Rates of Preeclampsia, Eclampsia, and Gestational Hypertension, United States, 1987-2004. *Am J Hypertens.* 2008;21(5):521-526. Doi:10.1038/ajh.2008.20

5. Cho GJ, Jung US, Sim JY, *et al.*, Is preeclampsia itself a risk factor for the development of metabolic syndrome after delivery? *Obstet Gynecol Sci.* 2019;62(4):233. Doi:10.5468/ogs.2019.62.4.233
6. Pinto A. Metabolic Syndrome after Preeclampsia: A Cohort Study with a Mean Follow Up of 14 Years. *J Metab Syndr.* 2014;03(03). Doi:10.4172/2167-0943.1000152
7. Drost JT, Arpaci G, Ottervanger JP, *et al.*, Cardiovascular risk factors in women 10 years post early preeclampsia: the Preeclampsia Risk Evaluation in Females study (PREVFEM). *Eur J Prev Cardiol.* 2012;19(5):1138-1144. doi:10.1177/1741826711421079
8. Forest JC, Girouard J, Massé J, *et al.*, Early Occurrence of Metabolic Syndrome After Hypertension in Pregnancy. *Obstetrics & Gynecology.* 2005;105(6):1373-1380. Doi:10.1097/01.AOG.0000163252.02227.f8
9. Henry A, Mangos G, Roberts LM, *et al.*, Preeclampsia-Associated Cardiovascular Risk Factors 6 Months and 2 Years After Pregnancy: The P4 Study. *Hypertension.* 2024;81(4):851-860. Doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.123.21890
10. Mangos GJ, Spaan JJ, Pirabhahar S, Brown MA. Markers of cardiovascular disease risk after hypertension in pregnancy. *J Hypertens.* 2012;30(2):351-358. doi:10.1097/HJH.0b013e32834e5ac7
11. Benschop L, Duvekot JJ, Roeters van Lennep JE. Future risk of cardiovascular disease risk factors and events in women after a hypertensive disorder of pregnancy. *Heart.* 2019;105(16):1273-1278. Doi:10.1136/heartjnl-2018-313453
12. Alberti KGM, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome—a new worldwide definition. *The Lancet.* 2005;366(9491):1059-1062. Doi:10.1016/S0140-6736(05)67402-8
13. Cho GJ, Jung US, Sim JY, *et al.*, Is preeclampsia itself a risk factor for the development of metabolic syndrome after delivery? *Obstet Gynecol Sci.* 2019;62(4):233. Doi:10.5468/ogs.2019.62.4.233
14. Yang JJ, Lee SA, Choi JY, *et al.*, Subsequent Risk of Metabolic Syndrome in Women With a History of Preeclampsia: Data From the Health Examinees Study. *J Epidemiol.* 2015;25(4):281-288. Doi:10.2188/jea.JE20140136
15. Alpoim PN, Perucci LO, Godoi LC, Goulart COL, Dusse LMS. Oxidative stress markers and thrombomodulin plasma levels in women with early and late severe preeclampsia. *Clinica Chimica Acta.* 2018;483:234-238. doi:10.1016/j.cca.2018.04.039
16. Alpoim PN, Gomes KB, Pinheiro M de B, *et al.*, Polymorphisms in endothelial nitric oxide synthase gene in early and late severe preeclampsia. *Nitric Oxide.* 2014;42:19-23. Doi:10.1016/j.niox.2014.07.006

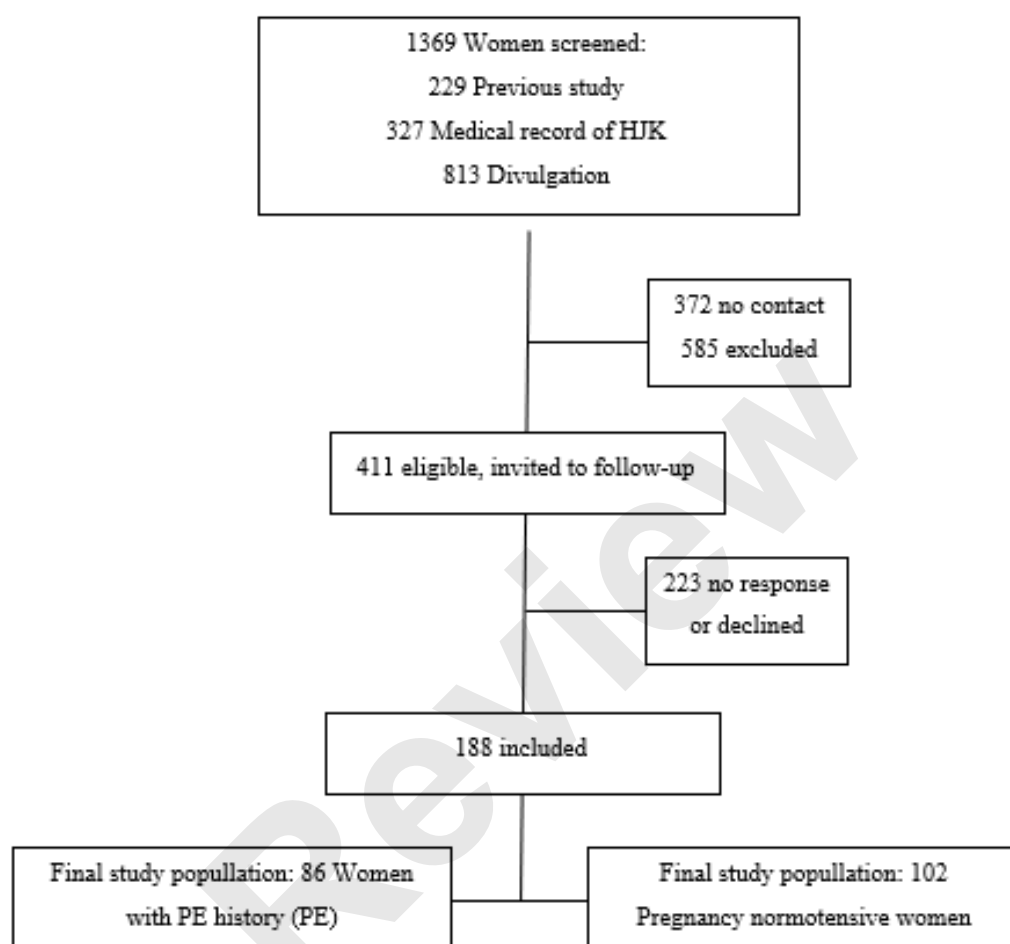
- 4 17. ACOG. ACOG Practice Bulletin No. 202: Gestational Hypertension and
5 Preeclampsia. *Obstetrics & Gynecology*. 2019;133(1):1-1.
6 doi:10.1097/AOG.0000000000003018
- 7 18. American College of Obstetricians and Gynecologists. Gestational Hypertension
8 and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. *Obstetrics and*
9 *gynecology*. 2020;135(6):e237-e260. Doi:10.1097/AOG.0000000000003891
- 10 19. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. *Atualização Da Diretriz*
11 *Brasileira de Dislipidemias e Prevenção Da Aterosclerose*. Vol 109. (Moreira LF,
12 Barreto-Filho J, Evora P, *et al.*, eds.). Catasão; 2017.
- 13 20. Expert Panel on Detection E and T of HBC in A. Executive Summary of the Third
14 Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on
15 Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult
16 Treatment Panel III). *JAMA: The Journal of the American Medical Association*.
17 2001;285(19):2486-2497. Doi:10.1001/jama.285.19.2486
- 18 21. Muntner P, Shimbo D, Carey RM, *et al.*, Measurement of Blood Pressure in
19 Humans: A Scientific Statement From the American Heart Association.
20 *Hypertension*. 2019;73(5). Doi:10.1161/HYP.0000000000000087
- 21 22. Martin SS, Blaha MJ, Elshazly MB, *et al.*, Comparison of a Novel Method vs the
22 Friedewald Equation for Estimating Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels
23 From the Standard Lipid Profile. *JAMA*. 2013;310(19):2061.
24 doi:10.1001/jama.2013.280532
- 25 23. Précoma DB, Oliveira GMM de, Simão AF, *et al.*, Updated Cardiovascular
26 Prevention Guideline of the Brazilian Society of Cardiology – 2019. *Arq Bras*
27 *Cardiol*. 2019. Doi:10.5935/abc.20190204
- 28 24. Thakkar A, Agarwala A, Michos ED. Secondary Prevention of Cardiovascular
29 Disease in Women: Closing the Gap. *European Cardiology Review*. 2021;16.
30 doi:10.15420/ecr.2021.24
- 31 25. Jaffer S, Foulds HJA, Parry M, *et al.*, The Canadian Women's Heart Health
32 Alliance ATLAS on the Epidemiology, Diagnosis, and Management of
33 Cardiovascular Disease in Women—Chapter 2: Scope of the Problem. *CJC Open*.
34 2021;3(1):1-11. Doi:10.1016/j.cjco.2020.10.009
- 35 26. Vogel B, Acevedo M, Appelman Y, *et al.*, The Lancet women and cardiovascular
36 disease Commission: reducing the global burden by 2030. *The Lancet*.
37 2021;397(10292):2385-2438. Doi:10.1016/S0140-6736(21)00684-X
- 38 27. AHA. 2018
39 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/AphA/ASPC/NLA/PCN
40 A Guideline on the Management of Blood Cholesterol: Executive Summary: A
41 Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task
42 Force on Clinical Practice Guidelines. *AHA Journal*. 2019;139(25):e1046-e1081.
43 doi:10.1161/CIR.0000000000000624
- 44
- 45
- 46
- 47
- 48
- 49
- 50
- 51
- 52
- 53
- 54
- 55
- 56
- 57
- 58
- 59
- 60

28. Arnadottir GA, Geirsson RT, Arngrimsson R, Jonsdottir LS, Olafsson O. Cardiovascular death in women who had hypertension in pregnancy: a case-control study. *International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2005;112(3):286-292. Doi:10.1111/j.1471-0528.2004.00396.x
29. Brouwers L, van der Meiden-van Roest A, Savelkoul C, *et al.*, Recurrence of pre-eclampsia and the risk of future hypertension and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *BJOG*. 2018;125(13):1642-1654. doi:10.1111/1471-0528.15394
30. Brown DW, Dueker N, Jamieson DJ, *et al.*, Preeclampsia and the Risk of Ischemic Stroke Among Young Women. *Stroke*. 2006;37(4):1055-1059. doi:10.1161/01.STR.0000206284.96739.ee
31. Garovic VD, Bailey KR, Boerwinkle E, *et al.*, Hypertension in pregnancy as a risk factor for cardiovascular disease later in life. *J Hypertens*. 2010;28(4):826-833. doi:10.1097/HJH.0b013e328335c29a
32. Mann JJ, Doll R, Thorogood M, Vessey MP, Waters WE. Risk factors for myocardial infarction in young women. *J Epidemiol Community Health (1978)*. 1976;30(2):94-100. Doi:10.1136/jech.30.2.94
33. Seidman M, Mitchell R, Stone J. Pathophysiology of atherosclerosis. In: Willis MS, Homeister JW, Stone JR, eds. *Cellular and Molecular Pathobiology of Cardiovascular Disease*. Elsevier; 2014:221-237.
34. Lykke JA, Langhoff-Roos J, Sibai BM, Funai EF, Triche EW, Paidas MJ. Hypertensive Pregnancy Disorders and Subsequent Cardiovascular Morbidity and Type 2 Diabetes Mellitus in the Mother. *Hypertension*. 2009;53(6):944-951. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.130765
35. Berks D, Steegers EAP, Molas M, Visser W. Resolution of Hypertension and Proteinuria After Preeclampsia. *Obstetrics & Gynecology*. 2009;114(6):1307-1314. Doi:10.1097/AOG.0b013e3181c14e3e
36. Behrens I, Basit S, Melbye M, *et al.*, Risk of post-pregnancy hypertension in women with a history of hypertensive disorders of pregnancy: nationwide cohort study. *BMJ*. July 2017;j3078. Doi:10.1136/bmj.j3078
37. Haggai M, Sgayer I, Bornstein J, Odeh M, Lowenstein L, Frank Wolf M. Liver stiffness and steatosis in preeclampsia as shown by transient elastography—a prospective cohort study. *Am J Obstet Gynecol*. 2022;227(3):515.e1-515.e9. doi:10.1016/j.ajog.2022.04.048
38. Lonardo A, Sookoian S, Pirola CJ, Targher G. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of cardiovascular disease. *Metabolism*. 2016;65(8):1136-1150. doi:10.1016/j.metabol.2015.09.017
39. Rafiq N, Bai C, Fang Y, *et al.*, Long-Term Follow-Up of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2009;7(2):234-238. Doi:10.1016/j.cgh.2008.11.005

40. Expert Panel on Detection E and T of HBC in A. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 2001;285(19):2486-2497. Doi:10.1001/jama.285.19.2486
41. Saklayen MG. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Curr Hypertens Rep*. 2018;20(2):12. Doi:10.1007/s11906-018-0812-z
42. Christensen M, Kronborg CS, Eldrup N, Rossen NB, Knudsen UB. Preeclampsia and cardiovascular disease risk assessment - Do arterial stiffness and atherosclerosis uncover increased risk ten years after delivery? *Elsevier: Pregnancy hypertension*. 2016;6(2):110-114. Doi:10.1016/j.pregphy.2016.04.001
43. Berends AL, de Groot CJM, Sijbrands EJ, *et al.*, Shared constitutional risks for maternal vascular-related pregnancy complications and future cardiovascular disease. *Hypertension*. 2008;51(4):1034-1041. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.101873
44. Berends AL, de Groot CJM, Sijbrands EJ, *et al.*, Shared constitutional risks for maternal vascular-related pregnancy complications and future cardiovascular disease. *AHA Journal*. 2008;51(4):1034-1041. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.101873
45. Bokslag A, Teunissen PW, Franssen C, *et al.*, Effect of early-onset preeclampsia on cardiovascular risk in the fifth decade of life. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;216(5):523.e1-523.e7. doi:10.1016/j.ajog.2017.02.015
46. De Simone G, Devereux RB, Chinali M, *et al.*, Risk Factors for Arterial Hypertension in Adults With Initial Optimal Blood Pressure. *Hypertension*. 2006;47(2):162-167. Doi:10.1161/01.HYP.0000199103.40105.b5
47. Canti ICT, Komlós M, Martins-Costa SH, Ramos JGL, Capp E, Corleta H von E. Risk factors for cardiovascular disease ten years after preeclampsia. *Sao Paulo Medical Journal*. 2010;128(1):10-13. Doi:10.1590/S1516-31802010000100003
48. Cutler DM, Lleras-Muney A. Understanding differences in health behaviors by education. *J Health Econ*. 2010;29(1):1-28. Doi:10.1016/j.jhealeco.2009.10.003
49. Maty SC, Everson-Rose SA, Haan MN, Raghunathan TE, Kaplan GA. Education, income, occupation, and the 34-year incidence (1965–99) of Type 2 diabetes in the Alameda County Study. *Int J Epidemiol*. 2005;34(6):1274-1281. doi:10.1093/ije/dyi167
50. Acquah I, Hagan K, Javed Z, *et al.*, Social Determinants of Cardiovascular Risk, Subclinical Cardiovascular Disease, and Cardiovascular Events. *J Am Heart Assoc*. 2023;12(6). Doi:10.1161/JAHA.122.025581
51. Ray JG, Vermeulen MJ, Schull MJ, Redelmeier DA. Cardiovascular health after maternal placental syndromes (CHAMPS): population-based retrospective cohort study. *The Lancet*. 2005;366(9499):1797-1803. Doi:10.1016/S0140-6736(05)67726-4

- 4 52. Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, *et al.*, A Clinical Trial of the Effects of Dietary
5 Patterns on Blood Pressure. *New England Journal of Medicine*.
6 1997;336(16):1117-1124. Doi:10.1056/NEJM199704173361601
7
8 53. Rich-Edwards JW, McElrath TF, Karumanchi SA, Seely EW. Breathing Life Into
9 the Lifecourse Approach. *Hypertension*. 2010;56(3):331-334.
10 doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.156810
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

SUPPLEMENTS

Supplementary Figure S1 – Flowcharts illustrating the construction of study population.

Supplementary Table 1: Severity criteria

Systolic blood pressure of 160 mm Hg or more, or diastolic blood pressure of 110 mm Hg or more on two occasions at least 4 hours apart (unless antihypertensive therapy has already been started)

Thrombocytopenia (platelets count $< 100 \times 10^9/L$)

Impaired liver function that is not accounted for by alternative diagnoses and as indicated by abnormally elevated liver enzymes blood levels (to more than twice the upper limit normal level) or by severe persistent right upper quadrant or epigastric pain unresponsive to medication

Renal insufficiency (creatinine blood levels > 1.1 mg/dL or a doubling of the creatinine level in the absence of other renal disease);

Pulmonary edema

New-onset headache unresponsive to medication and not accounted for by alternative diagnoses

Visual disturbances.

Supplementary Table 2: Linear regression analysis considering SBP, DBP, MBP, and LDLc as dependent variables.

Dependent variables		Regression coefficient	P value
SBP	PE history	6.4	0.010*
	Age	0.5	0.010*
	Antihypertensive	10.6	0.001*
	BMI	1.1	<0.001*
DBP	PE history	5.6	0.003*
	Age	8.4	0.001*
	Antihypertensive	0.7	0.001*
	BMI	0.4	0.009*
MBP	PE history	5.9	0.003*
	Age	9.2	<0.001*
	Antihypertensive	0.9	<0.001*
	BMI	0.4	0.005*
LDLc	PE history	23.4	<0.001*
	Age	1.0	0.021*

Results are presented as regression coefficients. *Significant Values: $P \leq 0.050$.

Abbreviations: PE- preeclampsia, BMI- Body Mass Index, SBP-Systolic Blood Pressure, DBP- Diastolic Blood Pressure, MBP- Mean Blood Pressure, LDLc- Low Density Lipoprotein.

TABLES

Table 1: Demographics and obstetrics data

Data	NPE (N=102)	PE (N=86)	P value
Current Age (years)	40.7 ± 6.0	39.7 ± 5.7	0.239
Education level			
Elementary School degree (N, %)	2.0 (2.0%)	9.0 (10.5%)	0.006*
High School degree (N, %)	50.0 (49.0%)	50.0 (58.1%)	
Higher degree (N, %)	50.0 (49.0%)	27.0 (31.4%)	
Characteristics of pregnancy and babies			
Parity (n of times)	2.0 [2.0]	2.0 [2.0]	0.236
Time after delivery (years)	9.9 [2.6]	9.4 [2.6]	0.146
Premature birth (n, %)	10.0 (9.8%)	44.0 (51.2%)	<0.001*

Results are presented as median [interquartile range] to nonparametric variables. Chi-square or Fisher's exact test was also used for categorical variables and presented by sample number and frequency in percentage. Student's t-test was used to evaluate parametric variables, presented as mean ± standard deviation. *Significant Values: $P \leq 0.050$.

Abbreviations: NPE, women who had normotensive pregnancy; PE, women who had PE history.

Table 2: Current participant data (N=188)

Data	NPE (N=102)	PE (N=86)	P value
Postpartum medical history (in 2023)			
Chronic hypertension (N, %)	4.0 (3.9%)	26.0 (30.2%)	<0.001*
Use of antihypertensive medication (N, %)	4.0 (3.9%)	25.0 (29.1%)	<0.001*
Diabetes (N, %)	1.0 (1.0%)	3.0 (3.5%)	0.326
Hypercholesterolemia (N, %)	3.0 (2.9%)	5.0 (5.8%)	0.468
Metabolic Syndrome (N, %)	12.0 (12.0%)	21.0 (24.4%)	0.027*
Participant physical characteristics (in 2023)			
Maternal weight (kg)	70.0 [13.0]	73.5 [14.3]	0.068
BMI (kg/m ²)	26.2 ± 4.7	28.1 ± 5.1	0.004*
Fat (%)	32.0 ± 8.5	35.2 ± 8.6	0.008*
Waist circumference (cm)	91.3 [90.0]	95.9 [94.5]	0.007*
Waist-hip ratio (cm)	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.114
SBP (mmHg)	123.0 [14.1]	133.8 [19.5]	<0.001*
DBP (mmHg)	81.1 [11.2]	90.0 [14.7]	<0.001*
MBP (mmHg)	95.1 [11.1]	104.6 [15.8]	<0.001*

Results are presented as median [interquartile range] to nonparametric variables. Chi-square or Fisher's exact test was also used for categorical variables and presented by sample number and frequency in percentage. Student's t-test was used to evaluate parametric variables, presented as mean ± standard deviation. *Significant Values: $P \leq 0.050$.

Abbreviations: NPE, women who had normotensive pregnancy; PE, women who had PE history, BMI- Body Mass Index, SBP- Systolic Blood Pressure, DBP- Diastolic Blood Pressure, MBP- Mean Blood Pressure.

Table 3: Biochemical features of women at the recruitment moment

Variables	NPE (N=102)	PE (N=86)	P value	Reference values (without fasting)
TC (mg/dL)	179.5 [50.5]	170.2 [36.7]	0.306	< 190
HDLc (mg/dL)	66.5 [17.3]	71.8 [20.9]	0.086	> 40
LDLc (mg/dL)	90.4 [33.5]	112.8 [35.9]	<0.001*	< 100
VLDLc (mg/dL)	22.2 [13.2]	20.9 [8.3]	0.862	< 30
non-HDLc (mg/dL)	110.7 [52.9]	99.6 [41.4]	0.295	< 130
TG (mg/dL)	124.6 [98.1]	117.7 [65.4]	0.837	< 175

Results are presented as median [interquartile range] to nonparametric variables. *Significant Values: $P \leq 0.050$.

Abbreviations: NPE, pregnancy normotensive women; PE, women with PE history; TC, Total Cholesterol; HDLc, High-Density Lipoprotein cholesterol; LDLc, Low-Density Lipoprotein cholesterol; VLDLc, Very Low-Density Lipoprotein cholesterol; non-HDLc, non-HDL cholesterol; TG, Triglycerides.

6. CAPÍTULO 3

6.1. Resultados da PCSK9

Os níveis plasmáticos da PCSK9 nos grupos MN e MP estão descritos na **Tabela 1**. O grupo MP apresentou concentrações menores de PCSK9 em comparação ao grupo MN ($p < 0,001$).

Tabela 1 - Níveis de PCSK9 em mulheres com histórico de pré-eclâmpsia (MP) e mulheres com histórico de gestação normotensa (MN)

Dado	MN (N=102)	MP (N=103)	P
PCSK9 (ng/mL)	233,60 [82,1]	170,60 [73,8]	<0,001*

Os resultados são apresentados como mediana [intervalo interquartil]. *Valores significativos: $P \leq 0,050$. Teste Mann-Whitney.

MN, Mulheres com histórico de gestação normotensa; MP, Mulheres com histórico de pré-eclâmpsia; PCSK9, Pró-proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9.

A **Tabela 2** apresenta os níveis de PCSK9 em mulheres que utilizavam estatinas e naquelas que não utilizavam o medicamento durante o período em que o estudo foi conduzido, entre 2022 e 2023. Não foi observada diferença nos níveis de PCSK9 entre os dois grupos ($p = 0,089$).

Tabela 2 – Níveis de PCSK9 em mulheres que usam estatinas e mulheres que não usam estatinas

Dado	Mulheres que usam estatina (N=9)	Mulheres que não usam estatina (N=196)	P
PCSK9 (ng/mL)	242,7 [107,3]	203,0 [85,0]	0,089

Os resultados são apresentados como mediana [intervalo interquartil]. *Valores significativos: $P \leq 0,050$. Teste Mann-Whitney.

MN, Mulheres com histórico de gestação normotensa; MP, Mulheres com histórico de pré-eclâmpsia; PCSK9, Pró-proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9.

6.2. Discussão da PCSK9

Nesse estudo, foi verificado que mulheres com histórico de PE apresentaram níveis reduzidos de PCSK9 quando comparadas a mulheres com histórico de gestação normotensa. Esses achados são consistentes com a hipótese de que a regulação da PCSK9 pode ser alterada em condições específicas de saúde, como no período pós-PE.

Hansan, *et al.* (2017) mostraram que, em mulheres, o aumento nos índices de obesidade, como IMC, circunferência da cintura e relação cintura-quadril, está associado à níveis reduzidos de PCSK9. Esses resultados sugerem que, em mulheres com obesidade, a redução nos níveis de PCSK9 favorece a formação excessiva do tecido adiposo. Isso ocorre porque a redução da PCSK9 pode levar a menor degradação do VLDL-R, resultando na maior disponibilidade desse receptor nos adipócitos, favorecendo, assim, a adipogênese (Hasan *et al.*, 2017). Esse mecanismo pode explicar a correlação observada em nosso estudo entre níveis reduzidos de PCSK9, e os valores elevados de IMC, percentual de gordura e circunferência de cintura em mulheres com histórico de PE.

Corroborando essa hipótese, outro estudo demonstrou que camundongos com deleção do gene da PCSK9 alimentados com uma dieta padrão durante 6 meses apresentaram um aumento de cerca de 80% na gordura visceral em comparação aos camundongos do tipo selvagem. Isso reforça a ideia de que a PCSK9 pode desempenhar um papel na restrição da formação de tecido adiposo (Roubtsova *et al.*, 2011).

Geralmente, os níveis de PCSK9 são elevados em vários estados metabólicos, desempenhando um papel relevante na indução de dislipidemia, na ativação de vias inflamatórias e na promoção da ativação plaquetária (Andreadou *et al.*, 2020; Barale *et al.*, 2020; Bao *et al.*, 2024). Em contraste, níveis reduzidos de PCSK9 podem atenuar a inflamação e a desestabilização de placas ateroscleróticas (Kühnast *et al.*, 2014; Y. Guo *et al.*, 2021).

A síndrome metabólica e o histórico de PE estão associados à presença de inflamação sistêmica persistente e não resolvida (Cirillo *et al.*, 2009; Herrock, Deer, e LaMarca, 2023; Vitoratos *et al.*, 2010). Além disso, há evidências de que a PCSK9

presente nas placas ateroscleróticas contribui para o agravamento do estado pró-inflamatório (Cheng *et al.*, 2016; Ruscica *et al.*, 2017). Nesse contexto, alguns estudos mostraram que a redução dos níveis de PCSK9 nas placas ateroscleróticas está associada à atenuação da resposta inflamatória, incluindo a redução da produção de citocinas pró-inflamatórias por macrófagos em resposta ao LDL-ox, uma menor infiltração de macrófagos e maior deposição de matriz extracelular nas placas, o que pode contribuir para a estabilização das placas e para a redução do risco de eventos cardiovasculares (Kühnast *et al.*, 2014; Ricci *et al.*, 2018). Por outro lado, estudos clínicos, como o ATHEROREMO-IVUS e *Brisighella Heart Study* sugeriram um papel direto da PCSK9 na formação de placas ateroscleróticas e mostraram que essa proteína está relacionada à maior rigidez arterial e ao maior espessamento da íntima-média, independente da redução dos níveis de LDLc (Cheng *et al.*, 2016; Ruscica *et al.*, 2017). Sendo assim, é plausível que a regulação negativa da PCSK9 em mulheres com histórico de PE possa exercer um efeito benéfico na redução da inflamação endotelial.

A PCSK9 reduz a quantidade de LDL-R disponíveis, e, portanto, espera-se a elevação das concentrações plasmáticas de LDLc (Dutka *et al.*, 2024). No entanto, não foi encontrada essa correlação no corrente estudo. As mulheres com histórico de PE apresentaram níveis reduzidos de PCSK9 e, paradoxalmente, níveis elevados de LDLc, em comparação às mulheres com histórico de gestação normotensa. Hansan *et al.* (2017) também não encontraram uma associação entre PCSK9 e LDLc, o que sugere que fatores adicionais, como genética, dieta, obesidade e síndrome metabólica, sejam necessários e preponderantes para explicar o aumento dos níveis de LDLc (Hasan *et al.*, 2017).

Diferenças de gênero também podem influenciar os resultados de PCSK9 e LDLc. Foi demonstrado que a redução do LDLc mediada pela redução da PCSK9 é mais acentuada em homens do que em mulheres (Myasoedova *et al.*, 2023). Há também o fato de que os níveis plasmáticos de PCSK9 variam em uma faixa ampla na população, entre a faixa de 33 a 2988ng/mL (Lakoski *et al.*, 2009). Essa ampla variação é responsável por apenas 7% da variação nos níveis plasmáticos de LDLc (Lakoski *et al.*, 2009). Esses achados indicam que os níveis circulantes de PCSK9 representam apenas um ponto chave de vários outros necessários para regulação dos níveis do LDLc.

Uma vez que o uso de estatinas está associado ao aumento dos níveis plasmáticos da PCSK9, devido à ativação do fator de transcrição SREBP, que induz a elevação dos níveis de mRNA de PCSK9 (Kuyama *et al.*, 2021), avaliamos os níveis de PCSK9 em mulheres que faziam uso de estatina e em mulheres que não utilizavam a estatina. No entanto, não encontramos diferenças entre os grupos, o que sugere que o uso de estatinas não influenciou os resultados obtidos.

Em suma, por um lado, níveis reduzidos de PCSK9 podem exercer um efeito benéfico ao reduzir a inflamação endotelial e contribuir para a estabilização de placas ateroscleróticas por vias independentes do LDL. Por outro lado, a redução da PCSK9 não é suficiente para controlar os níveis plasmáticos de LDLc e pode se relacionar com o aumento dos índices de obesidade, como o IMC, o percentual de gordura e a circunferência da cintura em mulheres com histórico de PE. Esses resultados reforçam a complexidade do papel da PCSK9 na interface entre inflamação, metabolismo lipídico e adipogênese e da influência de fatores adicionais na regulação do LDLc e no risco cardiovascular.

7. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram que mulheres com histórico de PE apresentam vários fatores de risco de DCV, incluindo valores elevados de IMC, percentual de gordura, circunferências de cintura, PAS, PAD, LDLc. Essas mulheres também apresentam maior frequência de síndrome metabólica e hipertensão crônica. Isso fortalece o conceito estabelecido de que essas mulheres têm maior risco de DCV ao longo de suas vidas. De forma inédita, o presente estudo demonstrou que mulheres com histórico de PE apresentam níveis reduzidos de PCSK9 em comparação às mulheres com gestações normotensas, o que sugere alterações no metabolismo lipídico associadas ao histórico gestacional.

Em conjunto, esses achados evidenciam a necessidade de um acompanhamento clínico de mulheres com histórico de PE, com foco no controle dos níveis de LDLc, percentual de gordura e da PA, considerando o impacto desses fatores no risco cardiovascular futuro. Além disso, várias mulheres que possuíam risco cardiovascular não estavam cientes de suas condições de saúde antes de participarem desse estudo. Por isso, é fundamental que essas mulheres sejam conscientizadas sobre seu maior risco cardiovascular e orientadas a adotar um estilo de vida saudável, incluindo hábitos alimentares equilibrados e prática regular de atividade física.

Por fim, são necessários estudos adicionais para avaliar biomarcadores laboratoriais em diferentes momentos após a ocorrência de PE, a fim de esclarecer os mecanismos que levam ao desenvolvimento de DCV e possibilitar a identificação de fatores modificáveis, seja por intervenções comportamentais, seja por abordagens farmacológicas.

8. LIMITAÇÕES

As avaliações clínicas e laboratoriais foram baseadas em uma única análise das participantes, o que pode não ter representado verdadeiramente as mudanças ao longo do tempo nos marcadores e nas características clínicas das participantes do estudo. No futuro, novas coletas poderão ser realizadas, permitindo avaliar a evolução desses marcadores e desfechos clínicos.

A realização da ultrassonografia Doppler seria útil para complementar a avaliação clínica e laboratorial das participantes do estudo.

9. PERSPECTIVAS

Para melhor avaliar o risco de DCV em mulheres que tiveram PE, pretende-se observar o comportamento de outros marcadores laboratoriais. Além disso, planeja-se viabilizar a realização da ultrassonografia Doppler. Esse exame permitirá avaliar o espessamento médio-intimal e/ou a formação de placas ateromatosas, contribuindo para a avaliação do risco cardiovascular.

REFERÊNCIAS

- Abbasifard, Anahita, Shohreh Alimohammadi, Ebrahim Abbasi Oshaghi, e Gholamreza Shafiee. 2023. **“Association of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 protein and oxidative stress indicators in women with preeclampsia: A case-control study”**. International Journal of Reproductive BioMedicine (IJRM), novembro. doi:10.18502/ijrm.v21i10.14540.
- Abifadel, Marianne, Mathilde Varret, Jean-Pierre Rabès, Delphine Allard, Khadija Ouguerram, Martine Devillers, Corinne Cruaud, *et al.*, 2003. **“Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia”**. Nature Genetics 34 (2): 154–156. doi:10.1038/ng1161.
- Abujrad, H., J. Mayne, M. Ruzicka, M. Cousins, A. Raymond, J. Cheesman, M. Taljaard, A. Sorisky, K. Burns, e T.C. Ooi. 2014. **“Chronic kidney disease on hemodialysis is associated with decreased serum PCSK9 levels”**. Atherosclerosis 233 (1): 123–129. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2013.12.030.
- ACOG, 2019^a. **“ACOG Practice Bulletin No. 202: Gestational Hypertension and Preeclampsia”**. Obstetrics & Gynecology 133 (1): 1–1. doi:10.1097/AOG.0000000000003018.
- ACOG, 2019^b. **“ACOG Practice Bulletin No. 204: Fetal Growth Restriction”**. Obstetrics & Gynecology 133 (2): e97–e109. doi:10.1097/AOG.0000000000003070.
- ACOG, 2020. **“Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222.”** Obstetrics and gynecology 135 (6): e237–e260. doi:10.1097/AOG.0000000000003891.
- Adreak, Najah, Kajenny Srivaratharajah, Kerri-Anne Mullen, April Pike, Martha H. Mackay, Lisa Comber, e Beth L. Abramson. 2021. **“Incorporating a Women’s Cardiovascular Health Curriculum Into Medical Education”**. CJC Open 3 (12): S187–S191. doi:10.1016/j.cjco.2021.09.020.
- Agius, Andee, Roberta Sultana, Christian Camenzuli, Jean Calleja-Agius, e Rena Balzan. 2018. **“An update on the genetics of pre-eclampsia”**. Minerva Obstetrics and Gynecology 70 (4). doi:10.23736/S0026-4784.17.04150-8.
- AHA, 2017. **“Preeclampsia and Future Cardiovascular Health: A Systematic Review and Meta-Analysis”**. Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes 10 (2). doi:10.1161/CIRCOUTCOMES.116.003497.
- AHA, 2019. **“2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines.”** AHA Journal 139 (25): e1046–e1081. doi:10.1161/CIR.0000000000000624.

Ajoolabady, Amir, Domenico Pratico, Mohsen Mazidi, Ian G. Davies, Gregory Y.H. Lip, Nabil Seidah, Peter Libby, Guido Kroemer, e Jun Ren. 2024. **"PCSK9 in metabolism and diseases"**. *Metabolism*, novembro, 156064. doi:10.1016/j.metabol.2024.156064.

Albacha, Jeanne d'Arc, Mira Khoury, Charbel Mouawad, Katia Haddad, Samar Hamoui, Albert Azar, Ziad Fajloun, e Nehman Makdissy. 2015. **"High Incidence of ACE/PAI-1 in Association to a Spectrum of Other Polymorphic Cardiovascular Genes Involving PBMCs Proinflammatory Cytokines in Hypertensive Hypercholesterolemic Patients: Reversibility with a Combination of ACE Inhibitor and Statin"**. *PLOS ONE* 10 (5): e0127266. doi:10.1371/journal.pone.0127266.

Alonso, Rodrigo, Pedro Mata, Ovidio Muñiz, Francisco Fuentes-Jimenez, Jose Luis Díaz, Daniel Zambón, Marta Tomás, *et al.*, 2016. **"PCSK9 and lipoprotein (a) levels are two predictors of coronary artery calcification in asymptomatic patients with familial hypercholesterolemia"**. *Atherosclerosis* 254 (novembro): 249–253. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2016.08.038.

Andreadou, Ioanna, Rainer Schulz, Lina Badimon, Adriana Adameová, Petra Kleinbongard, Sandrine Lecour, Panagiota-Efstathia Nikolaou, *et al.*, 2020. **"Hyperlipidaemia and cardioprotection: Animal models for translational studies"**. *British Journal of Pharmacology* 177 (23): 5287–5311. doi:10.1111/bph.14931.

Arnett, Donna K., Roger S. Blumenthal, Michelle A. Albert, Andrew B. Buroker, Zachary D. Goldberger, Ellen J. Hahn, Cheryl Dennison Himmelfarb, *et al.*, 2019. **"2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: Executive Summary"**. *Journal of the American College of Cardiology* 74 (10): 1376–1414. doi:10.1016/j.jacc.2019.03.009.

Atkinson, Jessica, Grace Simpson, Susan P Walker, Stephen Tong, Roxanne Hastie, e Anthea Lindquist. 2023. **"The long-term risk of cardiovascular disease among women with a history of hypertensive disorders of pregnancy: a systematic review of clinical practice guidelines"**. *BMC Cardiovascular Disorders* 23 (1): 443. doi:10.1186/s12872-023-03446-x.

Azcui Aparicio, Roberto Enrique, Jocasta Ball, Stephanie Yiallourou, Prasanna Venkataraman, Thomas Marwick, e Melinda J. Carrington. 2021. **"Imaging-guided evaluation of subclinical atherosclerosis to enhance cardiovascular risk prediction in asymptomatic low-to-intermediate risk individuals: A systematic review."** *Preventive Medicine* 153: 106819. doi:10.1016/j.ypmed.2021.106819.

Baass, Alexis, Geneviève Dubuc, Michel Tremblay, Edgard E Delvin, Jennifer O'Loughlin, Emile Levy, Jean Davignon, e Marie Lambert. 2009. **"Plasma PCSK9 Is Associated with Age, Sex, and Multiple Metabolic Markers in a Population-Based Sample of Children and Adolescents"**. *Clinical Chemistry* 55 (9): 1637–1645. doi:10.1373/clinchem.2009.126987.

Bai, Xue-qin, Juan Peng, Mei-mei Wang, Jun Xiao, Qiong Xiang, Zhong Ren, Hong-yan Wen, Zhi-sheng Jiang, Zhi-han Tang, e Lu-shan Liu. 2018. **"PCSK9: A potential**

regulator of apoE/apoER2 against inflammation in atherosclerosis?" Clinica Chimica Acta 483 (agosto): 192–196. doi:10.1016/j.cca.2018.04.040.

Bakrania, Bhavisha A., Frank T. Spradley, Heather A. Drummond, Babbette LaMarca, Michael J. Ryan, e Joey P. Granger. 2020. **"Preeclampsia: Linking Placental Ischemia with Maternal Endothelial and Vascular Dysfunction"**. Em Comprehensive Physiology, 1315–1349. Wiley. doi:10.1002/cphy.c200008.

Ballard-Hernandez, Jennifer, e James Sall. 2023. **"Dyslipidemia Update"**. Nursing Clinics of North America 58 (3): 295–308. doi:10.1016/j.cnur.2023.05.002.

Bao, Xuhui, Yongjun Liang, Hanman Chang, Tianji Cai, Baijie Feng, Konstantin Gordon, Yuekun Zhu, Hailian Shi, Yundong He, e Liyi Xie. 2024. **"Targeting proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): from bench to bedside"**. Signal Transduction and Targeted Therapy 9 (1): 13. doi:10.1038/s41392-023-01690-3.

Barale, Cristina, Katia Bonomo, Chiara Frascaroli, Alessandro Morotti, Angelo Guerrasio, Franco Cavalot, e Isabella Russo. 2020. **"Platelet function and activation markers in primary hypercholesterolemia treated with anti-PCSK9 monoclonal antibody: A 12-month follow-up"**. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases 30 (2): 282–291. doi:10.1016/j.numecd.2019.09.012.

Barale, Cristina, Elena Melchionda, Alessandro Morotti, e Isabella Russo. 2021. **"PCSK9 Biology and Its Role in Atherothrombosis"**. International Journal of Molecular Sciences 22 (11): 5880. doi:10.3390/ijms22115880.

Barroso, Weimar Kunz Sebba, Cibele Isaac Saad Rodrigues, Luiz Aparecido Bortolotto, Marco Antônio Mota-Gomes, Andréa Araujo Brandão, Audes Diógenes de Magalhães Feitosa, Carlos Alberto Machado, *et al.*, 2021. **"Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020"**. Arquivos Brasileiros de Cardiologia 116 (3): 516–658. doi:10.36660/abc.20201238.

Barton, John R., Doug A. Woelkers, Roger B. Newman, C. Andrew Combs, Helen Y. How, Kim A. Boggess, James N. Martin, Kenneth Kupfer, e Baha M. Sibai. 2020. **"Placental growth factor predicts time to delivery in women with signs or symptoms of early preterm preeclampsia: a prospective multicenter study"**. American Journal of Obstetrics and Gynecology 222 (3): 259.e1-259.e11. doi:10.1016/j.ajog.2019.09.003.

Basit, Saima, Jan Wohlfahrt, e Heather A. Boyd. 2019. **"Pregnancy loss and risk of later dementia: A nationwide cohort study, Denmark, 1977–2017"**. Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions 5 (1): 146–153. doi:10.1016/j.trci.2019.02.006.

Bayona, Ane, Francisco Arrieta, Carmen Rodríguez-Jiménez, Francisco Cerrato, Sonia Rodríguez-Nóvoa, Milagros Fernández-Lucas, Diego Gómez-Coronado, e Pedro Mata. 2020. **"Loss-of-function mutation of PCSK9 as a protective factor in the clinical expression of familial hypercholesterolemia"**. Medicine 99 (34): e21754. doi:10.1097/MD.00000000000021754.

Ben-Aicha, Soumaya, Lina Badimon, e Gemma Vilahur. 2020. **“Advances in HDL: Much More than Lipid Transporters”**. International Journal of Molecular Sciences 21 (3): 732. doi:10.3390/ijms21030732.

Benjannet, Suzanne, David Rhainds, Rachid Essalmani, Janice Mayne, Louise Wickham, Weijun Jin, Marie-Claude Asselin, *et al.*, 2004. **“NARC-1/PCSK9 and Its Natural Mutants”**. Journal of Biological Chemistry 279 (47): 48865–48875. doi:10.1074/jbc.M409699200.

Benschop, Laura, Johannes J Duvekot, e Jeanine E Roeters van Lennep. 2019. **“Future risk of cardiovascular disease risk factors and events in women after a hypertensive disorder of pregnancy”**. Heart 105 (16): 1273–1278. doi:10.1136/heartjnl-2018-313453.

Berberich, Amanda J, e Robert A Hegele. 2022. **“A Modern Approach to Dyslipidemia”**. Endocrine Reviews 43 (4): 611–653. doi:10.1210/endrev/bnab037.

Berends, Anne L, Christianne J M de Groot, Eric J Sijbrands, Mark P S Sie, Sofie H Benneheij, Richard Pal, Roger Heydanus, Ben A Oostra, Cornelia M van Duijn, e Eric A P Steegers. 2008. **“Shared constitutional risks for maternal vascular-related pregnancy complications and future cardiovascular disease.”** Hypertension (Dallas, Tex. : 1979) 51 (4): 1034–1041. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.101873.

Berger, Jean-Mathieu, Nathalie Vaillant, Cédric Le May, Carolina Calderon, Jeremy Brégeon, Xavier Prieur, Juliette Hadchouel, Gervaise Loirand, e Bertrand Cariou. 2015. **“PCSK9-deficiency does not alter blood pressure and sodium balance in mouse models of hypertension”**. Atherosclerosis 239 (1): 252–259. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.012.

Berks, D, M Hoedjes, H Raat, JJ Duvekot, EAP Steegers, e JDF Habbema. 2013. **“Risk of cardiovascular disease after pre-eclampsia and the effect of lifestyle interventions: a literature-based study”**. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology 120 (8): 924–931. doi:10.1111/1471-0528.12191.

Blom, Dirk, Ricardo Dent, Rita Castro, e Peter Toth. 2016. **“PCSK9 inhibition in the management of hyperlipidemia: focus on evolocumab”**. Vascular Health and Risk Management, maio, 185. doi:10.2147/VHRM.S102564.

Bokslag, Anouk, Pim W. Teunissen, Constantijn Franssen, Floortje van Kesteren, Otto Kamp, Wessel Ganzevoort, Walter J. Paulus, e Christianne J.M. de Groot. 2017. **“Effect of early-onset preeclampsia on cardiovascular risk in the fifth decade of life”**. American Journal of Obstetrics and Gynecology 216 (5): 523.e1-523.e7. doi:10.1016/j.ajog.2017.02.015.

Brahm, Amanda J., e Robert A. Hegele. 2015. **“Chylomicronaemia—current diagnosis and future therapies”**. Nature Reviews Endocrinology 11 (6): 352–362. doi:10.1038/nrendo.2015.26.

Brosens, Ivo, Robert Pijnenborg, Lisbeth Vercruysse, e Roberto Romero. 2011. **“The ‘Great Obstetrical Syndromes’ are associated with disorders of deep**

placentation". American Journal of Obstetrics and Gynecology 204 (3): 193–201. doi:10.1016/j.ajog.2010.08.009.

Brouwers, L, AJ van der Meiden-van Roest, C Savelkoul, TE Vogelvang, AT Lely, A Franx, e BB van Rijn. 2018. **"Recurrence of pre-eclampsia and the risk of future hypertension and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis"**. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology 125 (13): 1642–1654. doi:10.1111/1471-0528.15394.

Brown, Mark A., Laura A. Magee, Louise C. Kenny, S. Ananth Karumanchi, Fergus P McCarthy, Shigeru Saito, David R. Hall, Charlotte E. Warren, Gloria Adoyi, e Salisu Ishaku. 2018. **"The hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis & management recommendations for international practice"**. Pregnancy Hypertension 13 (julho): 291–310. doi:10.1016/j.preghy.2018.05.004.

Browning, Jeffrey D., e Jay D. Horton. 2010. **"Fasting reduces plasma proprotein convertase, subtilisin/kexin type 9 and cholesterol biosynthesis in humans"**. Journal of Lipid Research 51 (11): 3359–3363. doi:10.1194/jlr.P009860.

Cammisotto, Vittoria, Daniele Pastori, Cristina Nocella, Simona Bartimoccia, Valentina Castellani, Cinzia Marchese, Antonio Sili Scavalli, *et al.*, 2020. **"PCSK9 Regulates Nox2-Mediated Platelet Activation via CD36 Receptor in Patients with Atrial Fibrillation"**. Antioxidants 9 (4): 296. doi:10.3390/antiox9040296.

Chaiworapongsa, Tinnakorn, Piya Chaemsaitong, Lami Yeo, e Roberto Romero. 2014. **"Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology"**. Nature Reviews Nephrology 10 (8): 466–480. doi:10.1038/nrneph.2014.102.

Chan, Dick C., Jing Pang, B.M. McQuillan, Joseph Hung, John P. Beilby, P. Hugh R. Barrett, e Gerald F. Watts. 2016. **"Plasma Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9 as a Predictor of Carotid Atherosclerosis in Asymptomatic Adults"**. Heart, Lung and Circulation 25 (5): 520–525. doi:10.1016/j.hlc.2015.10.017.

Chappell, Lucy C, Catherine A Cluver, John Kingdom, e Stephen Tong. 2021. **"Pre-eclampsia."** The Lancet 398 (10297): 341–354. doi:10.1016/S0140-6736(20)32335-7.

Cheng, Jin M., Rohit M. Oemrawsingh, Hector M. Garcia-Garcia, Eric Boersma, Robert-Jan van Geuns, Patrick W. Serruys, Isabella Kardys, e K. Martijn Akkerhuis. 2016. **"PCSK9 in relation to coronary plaque inflammation: Results of the ATHEROREMO-IVUS study"**. Atherosclerosis 248 (maio): 117–122. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2016.03.010.

Chesley, Leon C., E Desmond W. Cooper. 1986. **"Genetics of hypertension in pregnancy: possible single gene control of pre-eclampsia and eclampsia in the descendants of eclamptic women"**. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology 93 (9): 898–908. doi:10.1111/j.1471-0528.1986.tb08006.x.

Cho, Geum Joon, Un Suk Jung, Jae Young Sim, Yoo Jin Lee, Na Young Bae, Hye Jin Choi, Jong Heon Park, Hai-Joong Kim, e Min-Jeong Oh. 2019. **"Is preeclampsia itself**

a risk factor for the development of metabolic syndrome after delivery?" *Obstetrics & Gynecology Science* 62 (4): 233. doi:10.5468/ogs.2019.62.4.233.

Chong, Shan, Guangyan Mu, Xinan Cen, Qian Xiang, e Yimin Cui. 2024. **"Effects of PCSK9 on thrombosis and haemostasis in a variety of metabolic states: Lipids and beyond (Review)"**. *International Journal of Molecular Medicine* 53 (6): 57. doi:10.3892/ijmm.2024.5381.

Christensen, Martin, Camilla Skovhus Kronborg, Nikolaj Eldrup, Niklas Blach Rossen, e Ulla Breth Knudsen. 2016. **"Preeclampsia and cardiovascular disease risk assessment - Do arterial stiffness and atherosclerosis uncover increased risk ten years after delivery?"** *Elsevier: Pregnancy hypertension* 6 (2): 110–114. doi:10.1016/j.preghy.2016.04.001.

Chun, Haarin, James H. Kurasawa, Philip Olivares, Ekaterina S. Marakasova, Svetlana A. Shestopal, Gabriela U. Hassink, Elena Karnaukhova, *et al.*, 2022. **"Characterization of interaction between blood coagulation factor VIII and LRP1 suggests dynamic binding by alternating complex contacts"**. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 20 (10): 2255–2269. doi:10.1111/jth.15817.

Cirillo, P., Y. Y. Sautin, J. Kanellis, D.-H. Kang, L. Gesualdo, T. Nakagawa, e R. J. Johnson. 2009. **"Systemic inflammation, metabolic syndrome and progressive renal disease"**. *Nephrology Dialysis Transplantation* 24 (5): 1384–1387. doi:10.1093/ndt/gfp038.

Cole, Laurence, e Peter R. Kramer. 2016. **"Cardiovascular Disease"**. Em *Human Physiology, Biochemistry and Basic Medicine*, 201–204. Elsevier. doi:10.1016/B978-0-12-803699-0.00042-6.

Couture, Frédéric, François D'Anjou, e Robert Day. 2011. **"On the cutting edge of proprotein convertase pharmacology: from molecular concepts to clinical applications"**. *BioMolecular Concepts* 2 (5): 421–438. doi:10.1515/BMC.2011.034.

Dalal, Jamshed. 2016. **"Vascular Disease in Young Indians (20-40 years): Role of Dyslipidemia"**. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. doi:10.7860/JCDR/2016/18683.8191.

Davidson, Karina W., Michael J. Barry, Carol M. Mangione, Michael Cabana, Aaron B. Caughey, Esa M. Davis, Katrina E. Donahue, *et al.*, 2021. **"Aspirin Use to Prevent Preeclampsia and Related Morbidity and Mortality"**. *JAMA* 326 (12): 1186. doi:10.1001/jama.2021.14781.

DeFilippis, Ersilia M, Bradley L Collins, Avinainder Singh, David W Biery, Amber Fatima, Arman Qamar, Adam N Berman, *et al.*, 2020. **"Women who experience a myocardial infarction at a young age have worse outcomes compared with men: the Mass General Brigham YOUNG-MI registry"**. *European Heart Journal* 41 (42): 4127–4137. doi:10.1093/eurheartj/ehaa662.

Dehn, Shirley, e Edward B. Thorp. 2018. **"Myeloid receptor CD36 is required for early phagocytosis of myocardial infarcts and induction of Nr4a1-dependent**

mechanisms of cardiac repair". The FASEB Journal 32 (1): 254–264. doi:10.1096/fj.201700450r.

Demers, Annie, Samaneh Samami, Benjamin Lauzier, Christine Des Rosiers, Emilienne Tudor Ngo Sock, Huy Ong, e Gaetan Mayer. 2015. **"PCSK9 Induces CD36 Degradation and Affects Long-Chain Fatty Acid Uptake and Triglyceride Metabolism in Adipocytes and in Mouse Liver"**. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 35 (12): 2517–2525. doi:10.1161/ATVBAHA.115.306032.

Devarashetty, Shreya, Diana I. Zamora, Gautami S. Patel, Idan Grossmann, Kevin Rodriguez, Mridul Soni, Pranay K. Joshi, Saawan C. Patel, Ibrahim Sange. 2021. **"Coronary Artery Calcium Score - A Reliable Indicator of Coronary Artery Disease?"** Cureus 13 (12): e20149. doi:10.7759/cureus.20149.

Dimitriadis, Evdokia, Daniel L. Rolnik, Wei Zhou, Guadalupe Estrada-Gutierrez, Kaori Koga, Rossana P. V. Francisco, Clare Whitehead, *et al.*, 2023. **"Pre-eclampsia"**. Nature Reviews Disease Primers 9 (1): 8. doi:10.1038/s41572-023-00417-6.

Ding, Wern Yew, Majd B Protty, Ian G Davies, e Gregory Y H Lip. 2022. **"Relationship between lipoproteins, thrombosis, and atrial fibrillation"**. Cardiovascular Research 118 (3): 716–731. doi:10.1093/cvr/cvab017.

Ding, Zufeng, Shijie Liu, Xianwei Wang, Xiaoyan Deng, Yubo Fan, Jiwani Shahanawaz, Robert J. Shmookler Reis, Kattayi I. Varughese, Tatsuya Sawamura, e Jawahar L. Mehta. 2015. **"Cross-talk between LOX-1 and PCSK9 in vascular tissues"**. Cardiovascular Research 107 (4): 556–567. doi:10.1093/cvr/cvv178.

Ding, Zufeng, Shijie Liu, Xianwei Wang, Xiaoyan Deng, Yubo Fan, Changqing Sun, Yannian Wang, e Jawahar L. Mehta. 2015. **"Hemodynamic Shear Stress via ROS Modulates PCSK9 Expression in Human Vascular Endothelial and Smooth Muscle Cells and Along the Mouse Aorta"**. Antioxidants & Redox Signaling 22 (9): 760–771. doi:10.1089/ars.2014.6054.

Ding, Zufeng, Xianwei Wang, Shijie Liu, Jiwani Shahanawaz, Sue Theus, Yubo Fan, Xiaoyan Deng, Sichang Zhou, e Jawahar L Mehta. 2018. **"PCSK9 expression in the ischaemic heart and its relationship to infarct size, cardiac function, and development of autophagy"**. Cardiovascular Research 114 (13): 1738–1751. doi:10.1093/cvr/cvy128.

Diniz, Angélica Lemos Debs, Maria Marta Bini Martins Paes, e Aline Debs Diniz. 2020. **"Analyzing Preeclampsia as the Tip of the Iceberg Represented by Women with Long-Term Cardiovascular Disease, Atherosclerosis, and Inflammation"**. Current Atherosclerosis Reports 22 (3): 13. doi:10.1007/s11883-020-0830-6.

Drost, José T, Ganiye Arpacı, Jan Paul Ottervanger, Menko Jan de Boer, Jim van Eyck, Yvonne T van der Schouw, e Angela HEM Maas. 2012. **"Cardiovascular risk factors in women 10 years post early preeclampsia: the Preeclampsia Risk Evaluation in FEMales study (PREVFEM)"**. European Journal of Preventive Cardiology 19 (5): 1138–1144. doi:10.1177/1741826711421079.

Dutka, Mieczysław, Karolina Zimmer, Michał Ćwiertnia, Tomasz Ilczak, e Rafał Bobiński. 2024. **“The role of PCSK9 in heart failure and other cardiovascular diseases—mechanisms of action beyond its effect on LDL cholesterol”**. *Heart Failure Reviews* 29 (5): 917–937. doi:10.1007/s10741-024-10409-7.

Elawad, Terteel, Georgia Scott, Jeffrey N. Bone, Helen Elwell, Cristina Escalona Lopez, Veronique Filippi, Marcus Green, *et al.*, 2024. **“Risk factors for pre-eclampsia in clinical practice guidelines: Comparison with the evidence”**. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 131 (1): 46–62. doi:10.1111/1471-0528.17320.

Falk, Erling. 2006. **“Pathogenesis of Atherosclerosis”**. *Journal of the American College of Cardiology* 47 (8): C7–C12. doi:10.1016/j.jacc.2005.09.068.

Feingold, Kenneth R. 2022. **“Lipid and Lipoprotein Metabolism”**. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 51 (3): 437–458. doi:10.1016/j.ecl.2022.02.008.

Feingold, Kenneth R. 2024. **Introduction to Lipids and Lipoproteins**. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305896/>.

Ferri, Nicola, e Massimiliano Ruscica. 2016. **“Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) and metabolic syndrome: insights on insulin resistance, inflammation, and atherogenic dyslipidemia”**. *Endocrine* 54 (3): 588–601. doi:10.1007/s12020-016-0939-0.

Forest, Jean-Claude, Joël Girouard, Jacques Massé, Jean-Marie Moutquin, Abdelaziz Kharfi, Roberta B. Ness, James M. Roberts, e Yves Giguère. 2005. **“Early Occurrence of Metabolic Syndrome After Hypertension in Pregnancy”**. *Obstetrics & Gynecology* 105 (6): 1373–1380. doi:10.1097/01.AOG.0000163252.02227.f8.

Fraser, Abigail, Scott M Nelson, Corrie Macdonald-Wallis, Lynne Cherry, Elaine Butler, Naveed Sattar, e Debbie A Lawlor. 2012. **“Associations of Pregnancy Complications With Calculated Cardiovascular Disease Risk and Cardiovascular Risk Factors in Middle Age: The Avon Longitudinal Study of Parents and Children”**. *AHA Journal* 125 (11): 1367–1380. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.044784.

Garovic, Vesna D, Kent R Bailey, Eric Boerwinkle, Steven C Hunt, Alan B Weder, David Curb, Thomas H Mosley, Heather J Wiste, e Stephen T Turner. 2010. **“Hypertension in pregnancy as a risk factor for cardiovascular disease later in life”**. *Journal of Hypertension* 28 (4): 826–833. doi:10.1097/HJH.0b013e328335c29a.

Ghosh, Moumita, Cecilia Gälman, Mats Rudling, e Bo Angelin. 2015. **“Influence of physiological changes in endogenous estrogen on circulating PCSK9 and LDL cholesterol”**. *Journal of Lipid Research* 56 (2): 463–469. doi:10.1194/jlr.M055780.

Giordano, Juliana C., Mary A. Parpinelli, Jose G. Cecatti, Samira M. Haddad, Maria L. Costa, Fernanda G. Surita, Joao L. Pinto e Silva, e Maria H. Sousa. 2014. **“The Burden of Eclampsia: Results from a Multicenter Study on Surveillance of Severe Maternal Morbidity in Brazil”**. *PLoS ONE* 9 (5): e97401. doi:10.1371/journal.pone.0097401.

Guida, José Paulo de Siqueira, Beatriz Gadioli de Andrade, Luis Gabriel Ferreira Pissinatti, Bruna Fagundes Rodrigues, Caio Augusto Hartman, e Maria Laura Costa. 2022. **“Prevalence of Preeclampsia in Brazil: An Integrative Review”**. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia / RBGO Gynecology and Obstetrics 44 (07): 686–691. doi:10.1055/s-0042-1742680.

Guo, Wei, e Mingming Sun. 2018. **“RBM20, a potential target for treatment of cardiomyopathy via titin isoform switching”**. Biophysical Reviews 10 (1): 15–25. doi:10.1007/s12551-017-0267-5.

Guo, Yanan, Binjie Yan, Shi Tai, Shenghua Zhou, e Xi-Long Zheng. 2021. **“PCSK9: Associated with cardiac diseases and their risk factors?”** Archives of Biochemistry and Biophysics 704 (junho): 108717. doi:10.1016/j.abb.2020.108717.

Hasan, Hayder, Amita Attlee, Veena Raigangar, Mohamed Madkour, e Samir Awadallah. 2017. **“Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) and metabolic syndrome components among young adult females”**. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews 11 (novembro): S337–S341. doi:10.1016/j.dsx.2017.03.012.

Hauge, Maria G., Peter Damm, Klaus F. Kofoed, Anne S. Ersbøll, Marianne Johansen, Per E. Sigvardsen, Mathias B. Møller, *et al.*, 2022a. **“Early Coronary Atherosclerosis in Women With Previous Preeclampsia”**. Journal of the American College of Cardiology 79 (23): 2310–2321. doi:10.1016/j.jacc.2022.03.381.

Henry, Amanda, George Mangos, Lynne M. Roberts, Mark A. Brown, Franziska Pettit, Anthony J. O’Sullivan, Rose Crowley, George Youssef, e Gregory K. Davis. 2024. **“Preeclampsia-Associated Cardiovascular Risk Factors 6 Months and 2 Years After Pregnancy: The P4 Study”**. Hypertension 81 (4): 851–860. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.123.21890.

Hermes, Wietske, Johannes C F Ket, Maria G van Pampus, Arie Franx, Marjolein V E Veenendaal, Clara Kolster, Jouke T Tamsma, *et al.*, 2012. **“Biochemical cardiovascular risk factors after hypertensive pregnancy disorders: a systematic review and meta-analysis.”** Obstetrical & gynecological survey 67 (12): 793–809. doi:10.1097/OGX.0b013e31827682fc.

Herraiz, I., M. S. Quezada, J. Rodriguez-Calvo, E. Gómez-Montes, C. Villalaín, e A. Galindo. 2018. **“Longitudinal change of sFlt-1/PIGF ratio in singleton pregnancy with early-onset fetal growth restriction”**. Ultrasound in Obstetrics & Gynecology 52 (5): 631–638. doi:10.1002/uog.18894.

Herraiz, Ignacio, Elisa Llurba, Stefan Verlohren, e Alberto Galindo. 2018. **“Update on the Diagnosis and Prognosis of Preeclampsia with the Aid of the sFlt-1/ PIGF Ratio in Singleton Pregnancies”**. Fetal Diagnosis and Therapy 43 (2): 81–89. doi:10.1159/000477903.

Herrock, Owen, Evangeline Deer, e Babbette LaMarca. 2023. **“Setting a stage: Inflammation during preeclampsia and postpartum”**. Frontiers in Physiology 14 (fevereiro). doi:10.3389/fphys.2023.1130116.

Honigberg, Michael C., e Amanda R. Jowell. 2022. **“Accelerated Coronary Atherosclerosis After Preeclampsia”**. *Journal of the American College of Cardiology* 79 (23): 2322–2324. doi:10.1016/j.jacc.2022.04.009.

Honigberg, Michael C., Seyedeh Maryam Zekavat, Krishna Aragam, Derek Klarin, Deepak L. Bhatt, Nandita S. Scott, Gina M. Peloso, e Pradeep Natarajan. 2019. **“Long-Term Cardiovascular Risk in Women With Hypertension During Pregnancy”**. *Journal of the American College of Cardiology* 74 (22): 2743–2754. doi:10.1016/j.jacc.2019.09.052.

Huang, Longxiang, Yuanjing Li, Zhe Cheng, Zi Lv, Suxin Luo, e Yong Xia. 2023. **“PCSK9 Promotes Endothelial Dysfunction During Sepsis Via the TLR4/MyD88/NF- κ B and NLRP3 Pathways”**. *Inflammation* 46 (1): 115–128. doi:10.1007/s10753-022-01715-z.

Huijgen, R., S.W. Fouchier, M. Denoun, B.A. Hutten, M.N. Vissers, G. Lambert, e J.J.P. Kastelein. 2012. **“Plasma levels of PCSK9 and phenotypic variability in familial hypercholesterolemia”**. *Journal of Lipid Research* 53 (5): 979–983. doi:10.1194/jlr.P023994.

Hummelgaard, Sandra, Joachim Pold Vilstrup, Camilla Gustafsen, Simon Glerup, e Kathrin Weyer. 2023. **“Targeting PCSK9 to tackle cardiovascular disease”**. *Pharmacology & Therapeutics* 249 (setembro): 108480. doi:10.1016/j.pharmthera.2023.108480.

Hunt, Steven C., Paul N. Hopkins, Katrina Bulka, Michael T. McDermott, Thomas L. Thorne, Bryan B. Wardell, Benjamin R. Bowen, Dennis G. Ballinger, Mark H. Skolnick, e Mark E. Samuels. 2000. **“Genetic Localization to Chromosome 1p32 of the Third Locus for Familial Hypercholesterolemia in a Utah Kindred”**. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 20 (4): 1089–1093. doi:10.1161/01.ATV.20.4.1089.

Ibarretxe, Daiana, Josefa Girona, Núria Plana, Anna Cabré, Raimón Ferré, Núria Amigó, Sandra Guaita, Roger Mallol, Mercedes Heras, e Luis Masana. 2016. **“Circulating PCSK9 in patients with type 2 diabetes and related metabolic disorders”**. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis* 28 (2): 71–78. doi:10.1016/j.arteri.2015.11.001.

Inversetti, Annalisa, Carlo Andrea Pivato, Martina Cristodoro, Alessia Chiara Latini, Gianluigi Condorelli, Nicoletta Di Simone, e Giulio Stefanini. 2024. **“Update on long-term cardiovascular risk after pre-eclampsia: a systematic review and meta-analysis”**. *European Heart Journal - Quality of Care and Clinical Outcomes* 10 (1): 4–13. doi:10.1093/ehjqcco/qcad065.

Jääskeläinen, Tiina, Anni Kivelä, Michelle Renlund, Seppo Heinonen, Minna Aittasalo, Hannele Laivuori, e Taisto Sarkola. 2022. **“Protocol: A randomized controlled trial to assess effectiveness of a 12-month lifestyle intervention to reduce cardiovascular disease risk in families ten years after pre-eclampsia (FINNCARE)”**. *Preventive Medicine Reports* 26 (abril): 101731. doi:10.1016/j.pmedr.2022.101731.

Jacobsen, Daniel P., Ragnhild Røysland, Heidi Strand, Kjartan Moe, Meryam Sugulle, Torbjørn Omland, e Anne Cathrine Staff. 2022. **“Circulating cardiovascular biomarkers during and after preeclampsia: Crosstalk with placental function?”** *Pregnancy Hypertension* 30 (dezembro): 103–109. doi:10.1016/j.preghy.2022.09.003.

Jia, Fang, Si-Fan Fei, De-Bing Tong, Cong Xue, e Jian-Jun Li. 2022. **“Sex difference in circulating PCSK9 and its clinical implications”**. *Frontiers in Pharmacology* 13 (setembro). doi:10.3389/fphar.2022.953845.

Jiang, Hui, Yongwen Zhou, Seyed M. Nabavi, Amirhossein Sahebkar, Peter J. Little, Suowen Xu, Jianping Weng, e Jianjun Ge. 2022. **“Mechanisms of Oxidized LDL-Mediated Endothelial Dysfunction and Its Consequences for the Development of Atherosclerosis”**. *Frontiers in Cardiovascular Medicine* 9 (junho). doi:10.3389/fcvm.2022.925923.

Jowell, Amanda R., Amy A. Sarma, Martha Gulati, Erin D. Michos, Arthur J. Vaught, Pradeep Natarajan, Camille E. Powe, e Michael C. Honigberg. 2022. **“Interventions to Mitigate Risk of Cardiovascular Disease After Adverse Pregnancy Outcomes”**. *JAMA Cardiology* 7 (3): 346. doi:10.1001/jamacardio.2021.4391.

Kajantie, Eero, Sonja Strang-Karlsson, Kari Anne Indredavik Evensen, e Peija Haaramo. 2019. **“Adult outcomes of being born late preterm or early term – What do we know?”** *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* 24 (1): 66–83. doi:10.1016/j.siny.2018.11.001.

Klein-Szanto, Andres J.P., e Daniel E. Bassi. 2019. **“Keep recycling going: New approaches to reduce LDL-C”**. *Biochemical Pharmacology* 164 (junho): 336–341. doi:10.1016/j.bcp.2019.04.003.

Kosenko, Tanja, Mia Golder, Geoffrey Leblond, Willy Weng, e Thomas A. Lagace. 2013. **“Low Density Lipoprotein Binds to Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type-9 (PCSK9) in Human Plasma and Inhibits PCSK9-mediated Low Density Lipoprotein Receptor Degradation”**. *Journal of Biological Chemistry* 288 (12): 8279–8288. doi:10.1074/jbc.M112.421370.

Kühnast, Susan, José W.A. van der Hoorn, Elsbet J. Pieterman, Anita M. van den Hoek, William J. Sasiela, Viktoria Gusarova, Anusch Peyman, *et al.*, 2014. **“Alirocumab inhibits atherosclerosis, improves the plaque morphology, and enhances the effects of a statin”**. *Journal of Lipid Research* 55 (10): 2103–2112. doi:10.1194/jlr.M051326.

Kuyama, Naoto, Yu Kataoka, Misa Takegami, Kunihiro Nishimura, Mariko Harada-Shiba, Mika Hori, Masatsune Ogura, *et al.*, 2021. **“Circulating Mature PCSK9 Level Predicts Diminished Response to Statin Therapy”**. *Journal of the American Heart Association* 10 (11). doi:10.1161/JAHA.120.019525.

Lakoski, Susan G., Thomas A. Lagace, Jonathan C. Cohen, Jay D. Horton, e Helen H. Hobbs. 2009. **“Genetic and Metabolic Determinants of Plasma PCSK9 Levels”**. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 94 (7): 2537–2543. doi:10.1210/jc.2009-0141.

Leander, Karin, Anders Mälarstig, Ferdinand M. van't Hooft, Craig Hyde, Mai-Lis Hellénus, Jason S. Troutt, Robert J. Konrad, John Öhrvik, Anders Hamsten, e Ulf de Faire. 2016. **"Circulating Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9) Predicts Future Risk of Cardiovascular Events Independently of Established Risk Factors"**. *Circulation* 133 (13): 1230–1239. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018531.

Lee, Chan Joo, Yong-ho Lee, Sahng Wook Park, Kwang Joon Kim, Sungha Park, Jong-Chan Youn, Sang-Hak Lee, Seok-Min Kang, e Yangsoo Jang. 2013. **"Association of serum proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 with carotid intima media thickness in hypertensive subjects"**. *Metabolism* 62 (6): 845–850. doi:10.1016/j.metabol.2013.01.005.

Leucker, Thorsten M., Gary Gerstenblith, Michael Schär, Todd T. Brown, Steven R. Jones, Yohannes Afework, Robert G. Weiss, e Allison G. Hays. 2020. **"Evolocumab, a PCSK9-Monoclonal Antibody, Rapidly Reverses Coronary Artery Endothelial Dysfunction in People Living With HIV and People With Dyslipidemia"**. *Journal of the American Heart Association* 9 (14). doi:10.1161/JAHA.120.016263.

Li, Jiao, Xue Liang, Yuanyuan Wang, Zhao Xu, e Guangping Li. 2017. **"Investigation of highly expressed PCSK9 in atherosclerotic plaques and ox-LDL-induced endothelial cell apoptosis"**. *Molecular Medicine Reports* 16 (2): 1817–1825. doi:10.3892/mmr.2017.6803.

Lipari, Michael T., Wei Li, Paul Moran, Monica Kong-Beltran, Tao Sai, Joyce Lai, S. Jack Lin, *et al.*, 2012. **"Furin-cleaved Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9) Is Active and Modulates Low Density Lipoprotein Receptor and Serum Cholesterol Levels"**. *Journal of Biological Chemistry* 287 (52): 43482–43491. doi:10.1074/jbc.M112.380618.

Liu, Shiliang, K. S. Joseph, Robert M. Liston, Sharon Bartholomew, Mark Walker, Juan Andrés León, Russell S. Kirby, Reg Sauve, e Michael S. Kramer. 2011. **"Incidence, Risk Factors, and Associated Complications of Eclampsia"**. *Obstetrics & Gynecology* 118 (5): 987–994. doi:10.1097/AOG.0b013e31823311c1.

Lotufo, Fátima Aparecida, Mary Angela Parpinelli, Maria José Osis, Fernanda Garanhani Surita, Maria Laura Costa, e José Guilherme Cecatti. 2016. **"Situational analysis of facilitators and barriers to availability and utilization of magnesium sulfate for eclampsia and severe preeclampsia in the public health system in Brazil"**. *BMC Pregnancy and Childbirth* 16 (1): 254. doi:10.1186/s12884-016-1055-0.

Lui, Nicla A., Gajana Jeyaram, e Amanda Henry. 2019. **"Postpartum Interventions to Reduce Long-Term Cardiovascular Disease Risk in Women After Hypertensive Disorders of Pregnancy: A Systematic Review"**. *Frontiers in Cardiovascular Medicine* 6 (novembro). doi:10.3389/fcvm.2019.00160.

Macchi, Chiara, Nicola Ferri, Cesare R. Sirtori, Alberto Corsini, Maciej Banach, e Massimiliano Ruscica. 2021. **"Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9"**. *The American Journal of Pathology* 191 (8): 1385–1397. doi:10.1016/j.ajpath.2021.04.016.

Macchi, Chiara, Maria Francesca Greco, Margherita Botta, Paola Sperandeo, Paola Dongiovanni, Luca Valenti, Arrigo F.G. Cicero, *et al.*, 2020. **"Leptin, Resistin, and Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9"**. The American Journal of Pathology 190 (11): 2226–2236. doi:10.1016/j.ajpath.2020.07.016.

Magee, Laura A, Mark A. Brown, David R. Hall, Sanjay Gupte, Annemarie Hennessy, S. Ananth Karumanchi, Louise C. Kenny, *et al.*, 2022. **"The 2021 International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy classification, diagnosis & management recommendations for international practice"**. Pregnancy Hypertension 27 (março): 148–169. doi:10.1016/j.preghy.2021.09.008.

Magnussen, Elisabeth B., Lars J. Vatten, George Davey Smith, e Pål R. Romundstad. 2009. **"Hypertensive Disorders in Pregnancy and Subsequently Measured Cardiovascular Risk Factors"**. Obstetrics & Gynecology 114 (5): 961–970. doi:10.1097/AOG.0b013e3181bb0dfc.

Malekmohammad, Khojasteh, Evgeny E. Bezsonov, e Mahmoud Rafieian-Kopaei. 2021. **"Role of Lipid Accumulation and Inflammation in Atherosclerosis: Focus on Molecular and Cellular Mechanisms"**. Frontiers in Cardiovascular Medicine 8 (setembro). doi:10.3389/fcvm.2021.707529.

Martin, Seth S., Michael J. Blaha, Mohamed B. Elshazly, Peter P. Toth, Peter O. Kwiterovich, Roger S. Blumenthal, e Steven R. Jones. 2013. **"Comparison of a Novel Method vs the Friedewald Equation for Estimating Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels From the Standard Lipid Profile"**. JAMA 310 (19): 2061. doi:10.1001/jama.2013.280532.

Martins, Aline M. A., Mariana U. B. Paiva, Diego V. N. Paiva, Raphaela M. de Oliveira, Henrique L. Machado, Leonardo J. S. R. Alves, Carolina R. C. Picossi, *et al.*, 2021. **"Innovative Approaches to Assess Intermediate Cardiovascular Risk Subjects: A Review From Clinical to Metabolomics Strategies"**. Frontiers in Cardiovascular Medicine 8 (dezembro). doi:10.3389/fcvm.2021.788062.

Matyas, Csaba, Eszter Trojnar, Suxian Zhao, Muhammad Arif, Partha Mukhopadhyay, Attila Kovacs, Alexandra Fabian, *et al.*, 2023. **"PCSK9, A Promising Novel Target for Age-Related Cardiovascular Dysfunction"**. JACC: Basic to Translational Science 8 (10): 1334–1353. doi:10.1016/j.jacbts.2023.06.005.

Maxwell, Kara N., e Jan L. Breslow. 2004. **"Adenoviral-mediated expression of Pcsk9 in mice results in a low-density lipoprotein receptor knockout phenotype"**. Proceedings of the National Academy of Sciences 101 (18): 7100–7105. doi:10.1073/pnas.0402133101.

Mayrink, Jussara, Renato T. Souza, Francisco E. Feitosa, Edilberto A. Rocha Filho, Débora F. Leite, Janete Vettorazzi, Iracema M. Calderon, *et al.*, 2019. **"Incidence and risk factors for Preeclampsia in a cohort of healthy nulliparous pregnant women: a nested case-control study"**. Scientific Reports 9 (1): 9517. doi:10.1038/s41598-019-46011-3.

Melendez, Quantil M., Sreevidhya T. Krishnaji, Catherine J. Wooten, e Dayami Lopez. 2017. **"Hypercholesterolemia: The role of PCSK9"**. Archives of Biochemistry and Biophysics 625–626 (julho): 39–53. doi:10.1016/j.abb.2017.06.001.

Mennitti, Cristina, Laura Sarno, Mariella Calvanese, Alessandro Gentile, Giuseppina Esposito, Caterina Fulgione, Giuliana Orlandi, *et al.*, 2024. **"Preliminary study on the role of human defensins, interleukins and PCSK9 in early and late preeclampsia"**. Reproductive Biology 24 (4): 100947. doi:10.1016/j.repbio.2024.100947.

Momtazi, Amir Abbas, Maciej Banach, Matteo Pirro, Evan A. Stein, e Amirhossein Sahebkar. 2017. **"PCSK9 and diabetes: is there a link?"** Drug Discovery Today 22 (6): 883–895. doi:10.1016/j.drudis.2017.01.006.

Myasoedova, Veronika A, Antoine Rimbert, Marina Camera, Cedric Le May, Romain Capoulade, Bertrand Cariou, e Paolo Poggio. 2023. **"LDL lowering effect of PCSK9 inhibition is reduced in women"**. European Heart Journal - Cardiovascular Pharmacotherapy 9 (4): 337–342. doi:10.1093/ehjcvp/pvad009.

Myatt, Leslie, e James M. Roberts. 2015. **"Preeclampsia: Syndrome or Disease?"** Current Hypertension Reports 17 (11): 83. doi:10.1007/s11906-015-0595-4.

Navarese, Eliano P., Paul A. Gurbel, Felicita Andreotti, Udaya Tantry, Young-Hoon Jeong, Marek Kozinski, Thomas Engström, *et al.*, 2013. **"Optimal Timing of Coronary Invasive Strategy in Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndromes"**. Annals of Internal Medicine 158 (4): 261. doi:10.7326/0003-4819-158-4-201302190-00006.

Oliveira, Gláucia Maria Moraes de, Luisa Campos Caldeira Brant, Carisi Anne Polanczyk, Deborah Carvalho Malta, Andreia Biolo, Bruno Ramos Nascimento, Maria de Fatima Marinho de Souza, *et al.*, 2024. **"Estatística Cardiovascular – Brasil 2023"**. Arquivos Brasileiros de Cardiologia 121 (2). doi:10.36660/abc.20240079.

Paciullo, Francesco, Eleonora Petito, Emanuela Falcinelli, Paolo Gresele, e Stefania Momi. 2022. **"Pleiotropic effects of PCSK9-inhibition on hemostasis: Anti-PCSK9 reduce FVIII levels by enhancing LRP1 expression"**. Thrombosis Research 213 (maio): 170–172. doi:10.1016/j.thromres.2022.03.021.

Persson, Lena, Guoqing Cao, Lars Ståhle, Beatrice G. Sjöberg, Jason S. Troutt, Robert J. Konrad, Cecilia Gälman, *et al.*, 2010. **"Circulating Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9 Has a Diurnal Rhythm Synchronous With Cholesterol Synthesis and Is Reduced by Fasting in Humans"**. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 30 (12): 2666–2672. doi:10.1161/ATVBAHA.110.214130.

Pinckard, Kelsey, Kedryn K. Baskin, e Kristin I. Stanford. 2019. **"Effects of Exercise to Improve Cardiovascular Health"**. Frontiers in Cardiovascular Medicine 6 (junho). doi:10.3389/fcvm.2019.00069.

Pinto, Ana. 2014. **"Metabolic Syndrome after Preeclampsia: A Cohort Study with a Mean Follow Up of 14 Years"**. Journal of Metabolic Syndrome 03 (03). doi:10.4172/2167-0943.1000152.

Pirillo, Angela, Alberico L. Catapano, e Giuseppe D. Norata. 2021. **“Monoclonal Antibodies in the Management of Familial Hypercholesterolemia: Focus on PCSK9 and ANGPTL3 Inhibitors”**. *Current Atherosclerosis Reports* 23 (12): 79. doi:10.1007/s11883-021-00972-x.

Pittara, T, A Vyrides, D Lamnissos, e K Giannakou. 2021. **“Pre-eclampsia and long-term health outcomes for mother and infant: an umbrella review”**. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 128 (9): 1421–1430. doi:10.1111/1471-0528.16683.

Podrez, Eugene A, Tatiana V Byzova, Maria Febbraio, Robert G Salomon, Yi Ma, Manojkumar Valiyaveetil, Eugenia Poliakov, *et al.*, 2007. **“Platelet CD36 links hyperlipidemia, oxidant stress and a prothrombotic phenotype”**. *Nature Medicine* 13 (9): 1086–1095. doi:10.1038/nm1626.

Rana, Sarosh, Elizabeth Lemoine, Joey P. Granger, e S. Ananth Karumanchi. 2019. **“Preeclampsia: Pathophysiology, Challenges, and Perspectives”**. *Circulation Research* 124 (7): 1094–1112. doi:10.1161/CIRCRESAHA.118.313276.

Ricci, Chiara, Massimiliano Ruscica, Marina Camera, Laura Rossetti, Chiara Macchi, Alessandra Colciago, Ilaria Zanotti, *et al.*, 2018. **“PCSK9 induces a pro-inflammatory response in macrophages”**. *Scientific Reports* 8 (1): 2267. doi:10.1038/s41598-018-20425-x.

Ridker, Paul M., Nader Rifai, Gary Bradwin, e Lynda Rose. 2016. **“Plasma proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 levels and the risk of first cardiovascular events”**. *European Heart Journal* 37 (6): 554–560. doi:10.1093/eurheartj/ehv568.

Rolnik, Daniel L., Kypros H. Nicolaides, e Liona C. Poon. 2022. **“Prevention of preeclampsia with aspirin”**. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 226 (2): S1108–S1119. doi:10.1016/j.ajog.2020.08.045.

Rosenson, Robert S, H Bryan Brewer, M John Chapman, Sergio Fazio, M Mahmood Hussain, Anatol Kontush, Ronald M Krauss, James D Otvos, Alan T Remaley, e Ernst J Schaefer. 2011. **“HDL Measures, Particle Heterogeneity, Proposed Nomenclature, and Relation to Atherosclerotic Cardiovascular Events”**. *Clinical Chemistry* 57 (3): 392–410. doi:10.1373/clinchem.2010.155333.

Roubtsova, Anna, Mercedes Nancy Munkonda, Zuhier Awan, Jadwiga Marcinkiewicz, Ann Chamberland, Claude Lazure, Katherine Cianflone, Nabil G. Seidah, e Annik Prat. 2011. **“Circulating Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin 9 (PCSK9) Regulates VLDLR Protein and Triglyceride Accumulation in Visceral Adipose Tissue”**. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 31 (4): 785–791. doi:10.1161/ATVBAHA.110.220988.

Ruscica, Massimiliano, Nicola Ferri, Federica Fogacci, Martina Rosticci, Margherita Botta, Silvia Marchiano, Paolo Magni, *et al.*, 2017. **“Circulating Levels of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 and Arterial Stiffness in a Large Population Sample: Data From the Brisighella Heart Study”**. *Journal of the American Heart Association* 6 (5). doi:10.1161/JAHA.117.005764.

Sabatine, Marc S., Robert P. Giugliano, Anthony C. Keech, Narimon Honarpour, Stephen D. Wiviott, Sabina A. Murphy, Julia F. Kuder, *et al.*, 2017. **“Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease”**. *New England Journal of Medicine* 376 (18): 1713–1722. doi:10.1056/NEJMoa1615664.

Sandsæter, Heidi L., Julie Horn, Janet W. Rich-Edwards, e Hege S. Haugdahl. 2019. **“Preeclampsia, gestational diabetes and later risk of cardiovascular disease: Women’s experiences and motivation for lifestyle changes explored in focus group interviews”**. *BMC Pregnancy and Childbirth* 19 (1): 448. doi:10.1186/s12884-019-2591-1.

Schulz, Rainer, e Klaus-Dieter Schlüter. 2017. **“PCSK9 targets important for lipid metabolism”**. *Clinical Research in Cardiology Supplements* 12 (S1): 2–11. doi:10.1007/s11789-017-0085-0.

Serrano, Norma C, Doris Cristina Quintero-Lesmes, Frank Dudbridge, Lydia J Leon, Aroon D Hingorani, David J Williams, e Juan P Casas. 2020. **“Family history of pre-eclampsia and cardiovascular disease as risk factors for pre-eclampsia: the GenPE case-control study”**. *Hypertension in Pregnancy* 39 (1): 56–63. doi:10.1080/10641955.2019.1704003.

Shapiro, Michael D., Hagai Tavori, e Sergio Fazio. 2018. **“PCSK9”**. *Circulation Research* 122 (10): 1420–1438. doi:10.1161/CIRCRESAHA.118.311227.

Shaw, Leslee J., Krishna Patel, Anuradha Lala-Trindade, Helen Feltovich, Luciana Vieira, Amy Kontorovich, Cande V. Ananth, *et al.*, 2024. **“Pathophysiology of Preeclampsia-Induced Vascular Dysfunction and Implications for Subclinical Myocardial Damage and Heart Failure”**. *JACC: Advances* 3 (6): 100980. doi:10.1016/j.jacadv.2024.100980.

Silva, Maria de Lourdes Costa da, Ana Cristina Araújo de Andrade Galvão, Nilba Lima de Souza, George Dantas de Azevedo, Selma Maria Bezerra Jerônimo, e Ana Cristina Pinheiro Fernandes de Araújo. 2014. **“Women with cardiovascular risk after preeclampsia: is there follow-up within the Unified Health System in Brazil?”** *Revista Latino-Americana de Enfermagem* 22 (1): 93–99. doi:10.1590/0104-1169.3197.2389.

Siqueira, Alessandra de Sá Earp, Aristarco Gonçalves de Siqueira-Filho, e Marcelo Gerardin Poirot Land. 2017. **“Analysis of the Economic Impact of Cardiovascular Diseases in the Last Five Years in Brazil”**. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. doi:10.5935/abc.20170068.

Sociedade Brasileira De Cardiologia. 2017. **Atualização da Diretriz Brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose**. Organizado por Luiz Felipe Moreira, José Barreto-Filho, Paulo Evora, Pedro Lemos, Antonio Lopes, Mauricio Scanavacca, Carlos Rochitte, *et al.*, Vol. 109. Catasonho.

Sovio, Ulla, Francesca Gaccioli, Emma Cook, D. Stephen Charnock-Jones, e Gordon C.S. Smith. 2021. **“Slowing of fetal growth and elevated maternal serum sFLT1:PIGF are associated with early term spontaneous labor”**. *American Journal*

of Obstetrics and Gynecology 225 (5): 520.e1-520.e10. doi:10.1016/j.ajog.2021.04.232.

Staff, Anne Cathrine, Maria Laura Costa, Ralf Dechend, Daniel P. Jacobsen, e Meryam Sugulle. 2024. **"Hypertensive disorders of pregnancy and long-term maternal cardiovascular risk: Bridging epidemiological knowledge into personalized postpartum care and follow-up"**. Pregnancy Hypertension 36 (junho): 101127. doi:10.1016/j.preghy.2024.101127.

Steegers, Eric AP, Peter von Dadelszen, Johannes J Duvekot, e Robert Pijnenborg. 2010. **"Pre-eclampsia"**. The Lancet 376 (9741): 631–644. doi:10.1016/S0140-6736(10)60279-6.

Steinberg, Daniel, e Joseph L. Witztum. 2009. **"Inhibition of PCSK9: A powerful weapon for achieving ideal LDL cholesterol levels"**. Proceedings of the National Academy of Sciences 106 (24): 9546–9547. doi:10.1073/pnas.0904560106.

Sun, Hua, Ronald M. Krauss, Jeffrey T. Chang, e Ba-Bie Teng. 2018. **"PCSK9 deficiency reduces atherosclerosis, apolipoprotein B secretion, and endothelial dysfunction"**. Journal of Lipid Research 59 (2): 207–223. doi:10.1194/jlr.M078360.

Tang, Ying, Sheng-Lan Li, Jia-Hui Hu, Kai-Jun Sun, Lei-Ling Liu, e Dan-Yan Xu. 2020. **"Research progress on alternative non-classical mechanisms of PCSK9 in atherosclerosis in patients with and without diabetes"**. Cardiovascular Diabetology 19 (1): 33. doi:10.1186/s12933-020-01009-4.

Tang, Zhihan, Lu Jiang, Juan Peng, Zhong Ren, Dangheng Wei, Chunyang Wu, Lihong Pan, Zhisheng Jiang, E Lushan Liu. 2012. **"PCSK9 siRNA suppresses the inflammatory response induced by oxLDL through inhibition of NF-κB activation in THP-1-derived macrophages"**. International Journal of Molecular Medicine 30 (4): 931–938. doi:10.3892/ijmm.2012.1072.

Tang, Zhi-Han, Juan Peng, Zhong Ren, Jing Yang, Ting-Ting Li, Tao-Hua Li, Zuo Wang, *et al.*, 2017. **"New role of PCSK9 in atherosclerotic inflammation promotion involving the TLR4/NF-κB pathway"**. Atherosclerosis 262 (julho): 113–122. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2017.04.023.

Taylor, Rachael, Vanessa A. Shrewsbury, Lisa Vincze, Linda Campbell, Robin Callister, Felicity Park, Tracy Schumacher, Clare Collins, e Melinda Hutchesson. 2019. **"Be Healthe for Your Heart: Protocol for a Pilot Randomized Controlled Trial Evaluating a Web-Based Behavioral Intervention to Improve the Cardiovascular Health of Women With a History of Preeclampsia"**. Frontiers in Cardiovascular Medicine 6 (setembro). doi:10.3389/fcvm.2019.00144.

Theilen, Lauren H., Huong Meeks, Alison Fraser, M. Sean Esplin, Ken R. Smith, e Michael W. Varner. 2018. **"Long-term mortality risk and life expectancy following recurrent hypertensive disease of pregnancy"**. American Journal of Obstetrics and Gynecology 219 (1): 107.e1-107.e6. doi:10.1016/j.ajog.2018.04.002.

Theodorou, Angeliki, Dimitrios S. Karagiannakis, Katerina Stefanaki, Evanthia Kassi, Melpomeni Peppas, Andromachi Vryonidou, e Stavroula A. Paschou. 2024. **"Female-**

specific risk factors for cardiovascular disease: an update". *Hormones* 23 (4): 637–653. doi:10.1007/s42000-024-00576-5.

Tóth, Štefan, Ján Fedačko, Tímea Pekárová, Zdenka Hertelyová, Matan Katz, Adil Mughees, Jozef Kuzma, Peter Štefanič, Ivan Kopolovets, e Daniel Pella. 2017. **"Elevated Circulating PCSK9 Concentrations Predict Subclinical Atherosclerotic Changes in Low Risk Obese and Non-Obese Patients"**. *Cardiology and Therapy* 6 (2): 281–289. doi:10.1007/s40119-017-0092-8.

Vasatova, Martina, Radek Pudil, Jan M. Horacek, e Tomas Buchler. 2013. **"Current Applications of Cardiac Troponin T for the Diagnosis of Myocardial Damage"**. *Em*, 33–65. doi:10.1016/B978-0-12-407680-8.00002-6.

Vaught, Arthur Jason, Theresa Boyer, Efthymios Ziogos, Nuria Amat-Codina, Anum Minhas, Kristin Darwin, Alexia Debrosse, *et al.*, 2023. **"The role of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 in placental salvage and lipid metabolism in women with preeclampsia"**. *Placenta* 132 (fevereiro): 1–6. doi:10.1016/j.placenta.2022.12.008.

Virani, Salim S., Alvaro Alonso, Hugo J. Aparicio, Emelia J. Benjamin, Marcio S. Bittencourt, Clifton W. Callaway, April P. Carson, *et al.*, 2021. **"Heart Disease and Stroke Statistics—2021 Update"**. *Circulation* 143 (8). doi:10.1161/CIR.0000000000000950.

Vitoratos, N., E. Economou, C. Iavazzo, K. Panoulis, e G. Creatsas. 2010. **"Maternal Serum Levels of TNF-Alpha and IL-6 Long after Delivery in Preeclamptic and Normotensive Pregnant Women"**. *Mediators of Inflammation* 2010: 1–6. doi:10.1155/2010/908649.

Wang, Hui, Qian Wang, Jintao Wang, Chiao Guo, Kyle Kleiman, He Meng, Jason S. Knight, e Daniel T. Eitzman. 2017. **"Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) Deficiency is Protective Against Venous Thrombosis in Mice"**. *Scientific Reports* 7 (1): 14360. doi:10.1038/s41598-017-14307-x.

Williams, Paula J., e Fiona Broughton Pipkin. 2011. **"The genetics of pre-eclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy"**. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* 25 (4): 405–417. doi:10.1016/j.bpobgyn.2011.02.007.

Wu, Chun-Yan, Zhi-Han Tang, Lu Jiang, Xue-Fei Li, Zhi-Sheng Jiang, e Lu-Shan Liu. 2012. **"PCSK9 siRNA inhibits HUVEC apoptosis induced by ox-LDL via Bcl/Bax–caspase9–caspase3 pathway"**. *Molecular and Cellular Biochemistry* 359 (1–2): 347–358. doi:10.1007/s11010-011-1028-6.

Xie, Wuxiang, Jing Liu, Wei Wang, Miao Wang, Yue Qi, Fan Zhao, Jiayi Sun, Jun Liu, Yan Li, e Dong Zhao. 2016. **"Association between plasma PCSK9 levels and 10-year progression of carotid atherosclerosis beyond LDL-C: A cohort study"**. *International Journal of Cardiology* 215 (julho): 293–298. doi:10.1016/j.ijcard.2016.04.103.

Yu, Edward, Vasanti S. Malik, e Frank B. Hu. 2018. **“Cardiovascular Disease Prevention by Diet Modification”**. *Journal of the American College of Cardiology* 72 (8): 914–926. doi:10.1016/j.jacc.2018.02.085.

Zhao, Xi, Hui-Wen Zhang, Sha Li, Yan Zhang, Rui-Xia Xu, Cheng-Gang Zhu, Na-Qiong Wu, *et al.*, 2018. **“Association between plasma proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 concentration and coronary artery calcification”**. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine* 55 (1): 158–164. doi:10.1177/0004563217695351.

Zhu, Yiming M., Todd J. Anderson, Khokan Sikdar, Marinda Fung, Matthew J. McQueen, Eva M. Lonn, e Subodh Verma. 2015. **“Association of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9) With Cardiovascular Risk in Primary Prevention”**. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 35 (10): 2254–2259. doi:10.1161/ATVBAHA.115.306172.

Zhyvotovska, Angelina, Denis Yusupov, e Samy I. McFarlane. 2019. **“Introductory Chapter: Overview of Lipoprotein Metabolism”**. Em *Dyslipidemia*. IntechOpen. doi:10.5772/intechopen.85094.

Zoet, Gerbrand A., Laura Benschop, Eric Boersma, Ricardo P.J. Budde, Bart C.J.M. Fauser, Yolanda van der Graaf, Christianne J.M. de Groot, *et al.*, 2018. **“Prevalence of Subclinical Coronary Artery Disease Assessed by Coronary Computed Tomography Angiography in 45- to 55-Year-Old Women With a History of Preeclampsia”**. *Circulation* 137 (8): 877–879. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.032695.

Zoet, Gerbrand A, Maria P H Koster, Birgitta K Velthuis, Christianne J M de Groot, Angela H E M Maas, Bart C J M Fauser, Arie Franx, e Bas B van Rijn. 2015. **“Determinants of future cardiovascular health in women with a history of preeclampsia.”** *Maturitas* 82 (2): 153–161. doi:10.1016/j.maturitas.2015.07.004.

APÊNDICE I – TERMO DE CONSCIENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO **(maior com histórico de PE)**

Você está sendo convidada como voluntária a participar da pesquisa “CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA, IMUNOLÓGICA, HEMOSTÁTICA, BIOQUÍMICA E ANGIOGÊNICA DE MULHERES APÓS TEREM APRESENTADO PRÉ-ECLÂMPSIA EM SUAS GESTAÇÕES”, que tem como objetivo avaliar alguns aspectos da sua saúde de mulheres após a gestação. Serão formados dois grupos: no primeiro estarão as mulheres que tiveram pré-eclâmpsia, do qual você fará parte. O segundo grupo será formado por mulheres que tiveram gestações saudáveis e não apresentaram nenhuma complicação. Os resultados dessa pesquisa poderão contribuir para o melhor entendimento das consequências tardias causadas pela pré-eclâmpsia, uma doença específica da gestação, que apresenta riscos à saúde da mãe e do bebê. O intuito é a prevenção de doenças e a manutenção da saúde.

Para realizar este estudo, faremos uma entrevista de aproximadamente 30 minutos. Serão feitas algumas perguntas sobre a sua saúde, seus hábitos e doenças crônicas como hipertensão. Além da entrevista, serão avaliados peso, altura, circunferência da cintura e pressão sanguínea. Na segunda parte da pesquisa, pedimos a sua autorização para a coleta, o depósito, o armazenamento, a utilização e descarte de 20 mL de sangue e de uma amostra de urina, a serem armazenados, por tempo indeterminado, em freezer a -80°C. O descarte do material será feito de forma adequada a evitar a contaminação do ambiente. A utilização do seu material biológico está vinculada somente a este projeto de pesquisa, ou, se você concordar, em outros futuros. Na coleta de sangue pode ocorrer uma leve dor localizada e formação de um pequeno hematoma. O sangue será coletado em três tipos de tubos e um pequeno desconforto pode ocorrer na troca de tubos. Para minimizar esse desconforto e a formação de hematomas, a coleta de sangue será realizada por um profissional experiente. Serão utilizados agulhas e tubos descartáveis, de forma que não há risco de contaminação. Após a coleta, será feita a compressão local para garantir o estancamento do sangramento. Não será realizada nova coleta de sangue.

Os exames laboratoriais são muito importantes para a prevenção de doenças crônicas. Os resultados dos seus exames serão entregues a você de forma gratuita, e qualquer dúvida poderá ser esclarecida com os pesquisadores. Independentemente dos resultados dos exames, você não sofrerá qualquer tipo de discriminação ou estigmatização. Caso seja encontrada alguma alteração nos exames, você será avisada e orientada sobre o acompanhamento em um serviço de saúde pela equipe da pesquisa.

Não haverá nenhuma despesa para participar deste estudo, todos os custos serão arcados pelos pesquisadores. Você terá garantia de assistência, imediata, integral e gratuita pelo tempo que for necessário em caso de danos decorrentes direta ou indiretamente da participação no estudo. Haverá indenização de qualquer dano decorrente da pesquisa.

O estudo pode ser esclarecido em qualquer aspecto que desejar, e você está livre para participar ou recusar-se a participar em qualquer momento e sem quaisquer prejuízos. Você pode ainda retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado no Biorrepositório quando desejar, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A sua participação é voluntária, e a recusa em

participar não acarretará quaisquer penalidades, tampouco mudança na forma de atendimento pelas pesquisadoras, que tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Seu nome ou o material que indique sua participação não serão divulgados sem a sua permissão. O seu nome não será identificado em nenhuma publicação resultante dessa pesquisa. Os resultados obtidos quando essa pesquisa for finalizada, estarão à sua disposição. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, na Faculdade de Farmácia da UFMG, e a outra será fornecida a você. Os dados, materiais e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de até 10 anos na sala 4141 da Faculdade de Farmácia da UFMG e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

Sua concordância em participar desse estudo é dada mediante assinatura desse termo, autorizando a coleta, armazenamento e utilização das amostras de sangue e urina. Você ficará com uma via desse termo. Os pesquisadores responsáveis se comprometem a cumprir integralmente o que está descrito neste termo e a esclarecer qualquer dúvida que possa surgir.

Eu, _____, portadora do documento de identidade _____, fui informada dos objetivos, métodos, riscos e benefícios da pesquisa e declaro que concordo em participar da pesquisa: “Caracterização genética, imunológica, hemostática, bioquímica e angiogênica de mulheres após terem apresentado pré-eclâmpsia em suas gestações”.

Recebi uma via deste termo assinado pelo pesquisador, que me deu a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim desejar.

- () Concordo que o meu material biológico seja utilizado somente para esta pesquisa.
 () Concordo que o meu material biológico possa ser utilizado em outras pesquisas, mas serei comunicado pelo pesquisador novamente e assinarei outro termo de consentimento livre e esclarecido que explique para que será utilizado o material.
 () Declaro que concordo em participar desta pesquisa. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido assinado por mim e pelo pesquisador, que me deu a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas.

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____.

 Nome completo da participante

 Assinatura da participante

Nome completo do Pesquisador Responsável: Dra. Patrícia Nessralla Alpoim

Endereço: Faculdade de Farmácia-UFMG, Bloco 3, Sala 4108. Av. Antônio Carlos, 6627. Belo Horizonte/MG. CEP: 31270-901.

Telefone: (31) 3409-7492

E-mail: patnessralla@yahoo.com.br

 Assinatura do pesquisador responsável

 Data

Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, a você poderá consultar: **COEP-UFMG - Comissão de Ética em Pesquisa da UFMG**

Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005. Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG – Brasil. CEP: 31270-901.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(maior sem histórico de PE)

Você está sendo convidada como voluntária a participar da pesquisa “CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA, IMUNOLÓGICA, HEMOSTÁTICA, BIOQUÍMICA E ANGIOGÊNICA DE MULHERES APÓS TEREM APRESENTADO PRÉ-ECLÂMPsia EM SUAS GESTAÇÕES”, que tem como objetivo avaliar alguns aspectos da sua saúde de mulheres após a gestação. Serão formados dois grupos: no primeiro estarão as mulheres que tiveram pré-eclâmpsia. Você fará parte do segundo grupo, formado por mulheres que tiveram gestações saudáveis e não apresentaram nenhuma complicação. Os resultados dessa pesquisa poderão contribuir para o melhor entendimento das consequências tardias causadas pela pré-eclâmpsia, uma doença específica da gestação, que apresenta riscos à saúde da mãe e do bebê. O intuito é a prevenção de doenças e a manutenção da saúde.

Para realizar este estudo, faremos uma entrevista de aproximadamente 30 minutos. Serão feitas algumas perguntas sobre a sua saúde, seus hábitos e doenças crônicas como hipertensão. Além da entrevista, serão avaliados peso, altura, circunferência da cintura e pressão sanguínea. Na segunda parte da pesquisa, pedimos a sua autorização para a coleta, o depósito, o armazenamento, a utilização e descarte de 20 mL de sangue e de uma amostra de urina, a serem armazenados, por tempo indeterminado, em freezer a -80°C. O descarte do material será feito de forma adequada a evitar a contaminação do ambiente. A utilização do seu material biológico está vinculada somente a este projeto de pesquisa, ou, se você concordar, em outros futuros. Na coleta de sangue pode ocorrer uma leve dor localizada e formação de um pequeno hematoma. O sangue será coletado em três tipos de tubos e um pequeno desconforto pode ocorrer na troca de tubos. Para minimizar esse desconforto e a formação de hematomas, a coleta de sangue será realizada por um profissional experiente. Serão utilizados agulhas e tubos descartáveis, de forma que não há risco de contaminação. Após a coleta, será feita a compressão local para garantir o estancamento do sangramento. Não será realizada nova coleta de sangue.

Os exames laboratoriais são muito importantes para a prevenção de doenças crônicas. Os resultados dos seus exames serão entregues a você de forma gratuita, e qualquer dúvida poderá ser esclarecida com os pesquisadores. Independentemente dos resultados dos exames, você não sofrerá qualquer tipo de discriminação ou estigmatização. Caso seja encontrada alguma alteração nos exames, você será avisada e orientada sobre o acompanhamento em um serviço de saúde pela equipe da pesquisa.

Não haverá nenhuma despesa para participar deste estudo, todos os custos serão arcados pelos pesquisadores. Você terá garantia de assistência, imediata, integral e gratuita pelo tempo que for necessário em caso de danos decorrentes direta ou indiretamente da participação no estudo. Haverá indenização de qualquer dano decorrente da pesquisa.

O estudo pode ser esclarecido em qualquer aspecto que desejar, e você está livre para participar ou recusar-se a participar em qualquer momento e sem quaisquer prejuízos. Você pode ainda retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado no Biorrepositório quando desejar, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A sua participação é voluntária, e a recusa em participar não acarretará quaisquer penalidades, tampouco mudança na forma de atendimento pelas pesquisadoras, que tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Seu nome ou o material que indique sua participação não serão

divulgados sem a sua permissão. O seu nome não será identificado em nenhuma publicação resultante dessa pesquisa. Os resultados obtidos quando essa pesquisa for finalizada, estarão à sua disposição.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, na Faculdade de Farmácia da UFMG, e a outra será fornecida a você. Os dados, materiais e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de até 10 anos na sala 4141 da Faculdade de Farmácia da UFMG e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

Sua concordância em participar desse estudo é dada mediante assinatura desse termo, autorizando a coleta, armazenamento e utilização das amostras de sangue e urina. Você ficará com uma via desse termo. Os pesquisadores responsáveis se comprometem a cumprir integralmente o que está descrito neste termo e a esclarecer qualquer dúvida que possa surgir.

Eu, _____, portadora do documento de identidade _____, fui informada dos objetivos, métodos, riscos e benefícios da pesquisa e declaro que concordo em participar da pesquisa: "Caracterização genética, imunológica, hemostática, bioquímica e angiogênica de mulheres após terem apresentado pré-eclâmpsia em suas gestações". Recebi uma via deste termo assinado pelo pesquisador, que me deu a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim desejar.
 () Concordo que o meu material biológico seja utilizado somente para esta pesquisa.
 () Concordo que o meu material biológico possa ser utilizado em outras pesquisas, mas serei comunicado pelo pesquisador novamente e assinarei outro termo de consentimento livre e esclarecido que explique para que será utilizado o material.
 () Declaro que concordo em participar desta pesquisa. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido assinado por mim e pelo pesquisador, que me deu a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas.

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____.

 Nome completo da participante

 Assinatura da participante

Nome completo do Pesquisador Responsável: Dra. Patrícia Nessralla Alpoim

Endereço: Faculdade de Farmácia-UFMG, Bloco 3, Sala 4108. Av. Antônio Carlos, 6627. Belo Horizonte/MG. CEP: 31270-901.

Telefone: (31) 3409-7492

E-mail: patnessralla@yahoo.com.br

 Assinatura do pesquisador responsável

 Data

Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, a você poderá consultar: **COEP-UFMG - Comissão de Ética em Pesquisa da UFMG**

Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005. Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG – Brasil. CEP: 31270-901.

E-mail: coep@prpq.ufmg.br. Tel: (31) 3409 4592.

APÊNDICE II – FICHA DE AVALIAÇÃO CLÍNICA

FICHA CLÍNICA		
Grupo: () MP () MN	Paciente n°:	Data:
Diagnóstico de pré-eclâmpsia: () Não () Sim, data:		
Nome:		
Etnia: () Branca () Parda () Negra	Estado civil:	
Nacionalidade:	Naturalidade:	
Data de nascimento:	Idade:	
Escolaridade:	Ocupação:	
Endereço:		
Telefones:		
E-mail:		
CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO		
☐ Doença autoimune ☐ Doença hepática ☐ Doença renal ☐ Doença cardiovascular ☐ Diabetes ☐ Câncer ☐ Distúrbios da coagulação ☐ Hipertensão arterial crônica		
ANTECEDENTES PESSOAIS		
Doenças que provocaram internação ao longo da vida?		
Cirurgias ao longo da vida?		
Diagnóstico de doença crônica atual? Quando? Esteve doente por quanto tempo?		
Medicamentos em uso:		
Tabagista? Há quanto tempo?		
Uso de drogas? Há quanto tempo?		
Ingere bebida alcoólica? Há quanto tempo? Quantidade?		
ANTECEDENTES OBSTÉTRICOS		
Quantas vezes esteve grávida?		
Quando foi sua primeira gestação?		
Apresentou alguma doença durante a gestação?		
Precisou usar alguma medicação durante essa gestação?		
Precisou ficar internada durante essa gestação?		
Parto normal ou cesariana?	Peso do bebê:	
Quando foi sua segunda gestação?		
Apresentou alguma doença durante a gestação?		
Precisou usar alguma medicação durante essa gestação?		
Precisou ficar internada durante essa gestação?		
Parto normal ou cesariana?	Peso do bebê:	
Quando foi a sua terceira gestação?		
Você apresentou alguma doença durante essa gestação?		
Você precisou usar alguma medicação durante essa gestação?		
Seu parto foi normal ou cesariano?	Peso do bebê:	
ACOLHIMENTO		
Gravidez foi planejada? () Sim () Não		
Teve rede de apoio? () Sim () Não		

Era o primeiro filho?	☐ Sim	☐ Não	
Mais de um filho?	☐ Sim	☐ Não	Quantidade:
Trabalhava fora?	☐ Sim	☐ Não	Carga horária:
Qual atividade exercia?			
Caso tivesse outros filhos, onde/com quem eles ficavam para trabalhar?			
☐ Creche	☐ Escola	☐ Avós	☐ Pai da criança ☐ Outros:
Estava em um relacionamento sério com o pai do bebê?			
☐ Sim	☐ Não		
Como estava o relacionamento afetivo/convivência com o pai?			
☐ Ruim	☐ Normal	☐ Bom	☐ Excelente
Sentiu apoio do seu parceiro/pai do bebê?			
☐ Nenhum	☐ Pouco	☐ Muito	
Muito Como se sentiu em relação a gravidez?			
☐ Triste	☐ Feliz	☐ Normal	☐ Outro:
Outras informações:			
INFORMAÇÕES SOBRE A GESTAÇÃO			
G/Pnormal/Pcesáreo/A:	Gestação múltipla: ☐ Sim ☐ Não		
Sexo do bebê: ☐ Feminino ☐ Masculino ☐ Ambos	Mesmo pai? ☐ Sim ☐ Não ☐ N/A		
Intervalo entre partos (meses):	Parto prematuro? ☐ Sim ☐ Não ☐ N/A		
Filhos vivos:			
Desfecho da gestação:			
SINAIS E SINTOMAS APRESENTADOS NA GESTAÇÃO			
☐ Pressão arterial superior a 140/90 mmHg (dois episódios) ☐ Edema pulmonar ☐ Cefaleia irresponsiva a medicação ☐ Epigastralgia ☐ Escotoma ☐ Proteinúria superior a 0,3 g/L em 24 horas; igual ou maior que 30 mg/dL em urina aleatória; igual ou maior que 2+ pelo método de fita (semiquantitativo) ☐ Trombocitopenia ($\leq 100000 \text{ mm}^3$) ☐ Creatinina sérica maior que 1,1 mg/dL ☐ Aumento da concentração das transaminases para o dobro da concentração normal			
FATORES DE RISCO APRESENTADOS NA GESTAÇÃO			
☐ Pré-eclâmpsia em gestação anterior ☐ Histórico de pré-eclâmpsia na família: ☐ mãe ☐ irmã ☐ outro ☐ Primigesta ☐ Primipaternidade ☐ Doença renal crônica ☐ Hipertensão arterial crônica (HAC) ☐ Limite extremo de idade (≤ 18 anos e ≥ 35 anos) ☐ Intervalo longo entre gestações (>10 anos) ☐ Gestação múltipla ☐ Grupo sanguíneo AB Se não, qual o grupo sanguíneo: ☐ Etnia não branca ☐ Diabetes mellitus ☐ IMC $\geq 35 \text{ kg/m}^2$			
AValiação CLínicas			
Pressão arterial:	Peso:	Altura:	
IMC:	% de gordura:	Cintura	
Abdômen:	Quadril:		
ALIMENTAÇÃO			
Toma refrigerante?	☐ Sim	☐ Não	
Consome peixes e frutos do mar?	☐ Sim	☐ Não	Quantidade:
Suplementação?	☐ Sim	☐ Não	Qual?
Leite e derivados?	☐ Sim	☐ Não	Quantidade/dia:
Castanhas e/ou outros?	☐ Sim	☐ Não	
Ingestão diária de água:	☐ Até 1L	☐ 1 a 2 L	☐ Mais de 2L
Funcionamento do intestino:	☐ Todos os dias	☐ Dias alternados	☐ 2 ou mais dias sem

evacuar

Consome alimentos integrais? () Sim

() Não Quais:

Toma algum chá? () Sim

() Não Qual(is):

Alergia alimentar? () Sim

() Não Qual(is):

Outras informações:

ANOTAÇÕES IMPORTANTES

APÊNDICE III – DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO DE ELISA

1. Amostras biológicas

Foram utilizadas amostras de plasma heparinizado de voluntários e dois *pools*, o *pool* 1 e o *pool* PERLA. O *pool* 1 foi obtido do *Brazilian network of COVID-19 during pregnancy* (REBRACO: *a multicentre study protocol*) e o *pool* PERLA foi produzido a partir de 50 amostras de plasma heparinizado de mulheres com e sem histórico de PE, participantes do estudo PERLA.

2. Testes de avaliação de desempenho

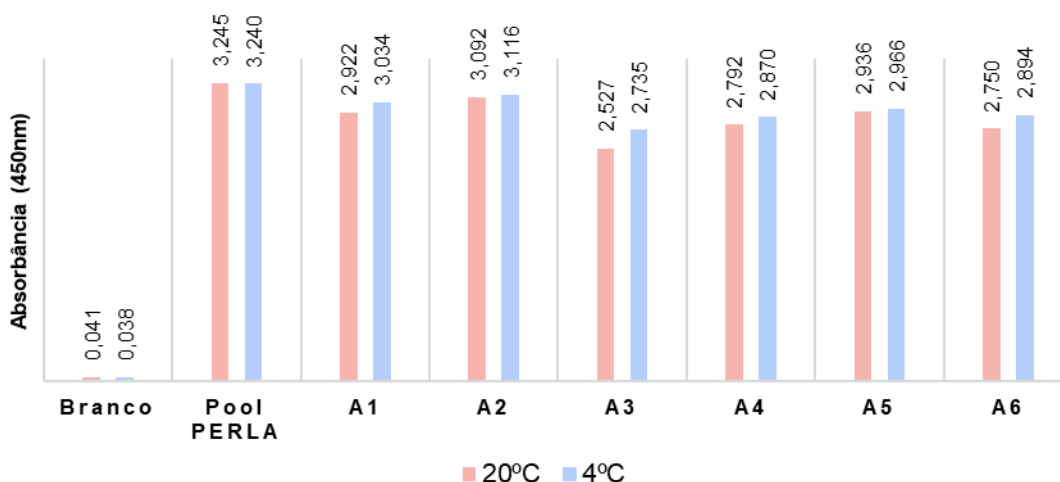
De acordo com o protocolo da R&D Systems®, inicialmente, as placas de poliestireno (Costar® Ref. 2592) devem ser revestidas com 100µL por poço do anticorpo de captura (anticorpo de camundongo anti-PCSK9 humana – R&D Systems®) na concentração de 2µg/mL, diluído em tampão fosfato salino (PBS) (137mM de cloreto de sódio, 2,7mM de cloreto de potássio, 8,1mM de fosfato de sódio dibásico, 1,5 mM de fosfato de potássio monobásico, pH 7,2-7,4, filtrado em 0,2µm). A adição da solução deve ser seguida por incubação overnight, em temperatura ambiente (20°C). Após a incubação, a placa deve ser lavada três vezes com 400µL por poço de tampão de lavagem (0,05% Tween® 20 em PBS). Em seguida, deve ser realizado o bloqueio com 300µL por poço de reagente diluente (1% albumina sérica bovina em PBS, pH 7,2-7,4, filtrado em 0,2µm), incubando-se por uma hora em temperatura ambiente. Após a incubação, a placa deve ser lavada três vezes com 400µL por poço de tampão de lavagem. Então, deve ser adicionado 100µL por poço da amostra/padrão ou amostra/padrão diluídos em reagente diluente, incubando-se por duas horas em temperatura ambiente. Após a incubação, a placa deve ser lavada três vezes com 400µL por poço de tampão de lavagem. Em seguida, deve ser adicionado 100µL por poço do anticorpo de detecção (anticorpo biotinilado de ovelha anti-PCSK9 humano – R&D Systems®) na concentração de 100ng/mL, diluído em reagente diluente, incubando-se por duas horas em temperatura ambiente. Após a incubação, a placa deve ser lavada três vezes com 400µL por poço de tampão de lavagem. Em seguida, deve ser adicionado 100µL por poço de Estreptavidina-horseradish peroxidase (HRP) (R&D Systems®) diluída 200 vezes em reagente

diluyente, incubando-se por 20 minutos à temperatura ambiente. Após a incubação, a placa deve ser lavada três vezes com 400µL por poço de tampão de lavagem. Em seguida, deve ser adicionado 100µL por poço de substrato tetrametilbenzidina (TMB) (Scienco® – DY999), incubando-se 20 minutos em temperatura ambiente. A reação é interrompida pela adição de 50µL por poço de solução de parada (2N ácido sulfúrico). Por fim, deve ser determinada, imediatamente, a densidade óptica de cada poço, utilizando um leitor de microplacas ajustado para 450nm.

Tendo esse protocolo como referência inicial, foram realizadas algumas modificações com o objetivo de otimizá-lo e adaptá-lo para a detecção de PCSK9 na população do estudo PERLA. A seguir, são descritos os testes realizados para avaliar o desempenho do ensaio após as modificações.

2.1. Avaliação das condições de tempo e temperatura de incubação do anticorpo de captura

O primeiro teste teve o objetivo de avaliar a viabilidade de redução da temperatura de incubação do anticorpo de captura. Foram utilizadas como amostras o *pool* PERLA e seis amostras de plasma heparinizado de voluntários (A1 a A6). Um ensaio ELISA foi realizado seguindo o protocolo do fabricante, com incubação *overnight* do anticorpo de captura à temperatura ambiente (20°C). E um segundo ensaio ELISA foi realizado com a temperatura de incubação do anticorpo de captura ajustada para 4°C. As demais etapas foram realizadas de acordo com o protocolo descrito no item 2, exceto a leitura espectrofotométrica, que foi realizada a 450nm (comprimento de onda primário) e 630nm (comprimento de onda secundário). Os resultados deste teste estão demonstrados no **Gráfico 1**.

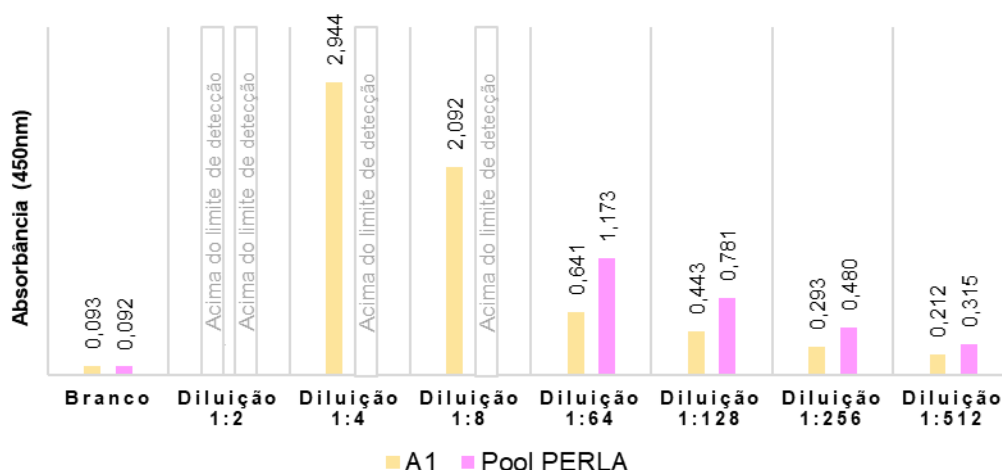
Gráfico 1 – Incubações *overnight* 20°C versus 4°C

As absorbâncias das amostras incubadas a 4°C foram praticamente equivalentes às das amostras incubadas a 21°C. Como não houve prejuízo à eficiência do ensaio, essa adaptação foi mantida nos testes subsequentes. Além disso, a leitura espectrofotométrica nos comprimentos de onda de 450nm e 630nm também foi mantida nas etapas seguintes.

2.2. Diluição das amostras

O segundo teste teve como objetivo avaliar a viabilidade de diluição das amostras. Foram utilizadas como amostras o *pool* PERLA e uma amostra de plasma heparinizado de um voluntário (A1). Em um ensaio ELISA foram testadas sete diluições da amostra (1:2, 1:4, 1:8, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512). As demais etapas foram realizadas de acordo com o protocolo descrito no item 2, com exceção da incubação do anticorpo de captura, que foi realizada *overnight* a 4°C e a leitura espectrofotométrica que foi realizada nos comprimentos de onda de 450nm e 630nm. Os resultados deste teste estão demonstrados no **Gráfico 2**.

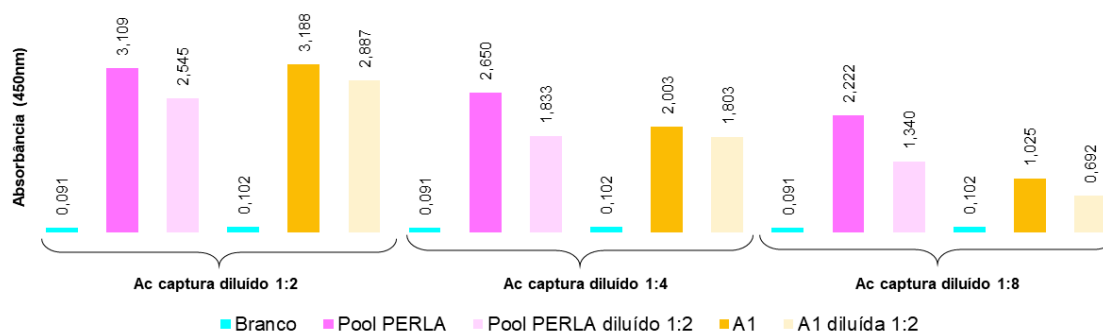
Gráfico 2 – Diferentes diluições do Pool PERLA e Amostra 1 (A1)



As absorbâncias da diluição 1:2 de ambas as amostras excederam o intervalo de detecção do ensaio. Já nas diluições 1:4 e 1:8 as absorbâncias do *pool* PERLA excederam o intervalo de detecção do ensaio. Como o próximo teste iria envolver a diluição do anticorpo de captura, optou-se por selecionar a diluição 1:2, uma vez que era esperado uma redução na absorbância das amostras devido à diluição do anticorpo.

2.3. Diluição do anticorpo de captura e comparação do uso da amostra sem diluir *versus* diluída 1:2

O terceiro teste teve como objetivo avaliar a viabilidade de diluição do anticorpo de captura combinada ou não com a diluição da amostra. Foram utilizadas como amostras o *pool* PERLA e uma amostra de plasma heparinizado de um voluntário (A1). Em um ensaio ELISA foram testadas três diluições do anticorpo de captura (1000ng/mL – 1:2, 500ng/mL – 1:4, 250ng/mL – 1:8). Um ensaio ELISA foi realizado com as três diluições dos anticorpos e com as amostras não diluídas. E um segundo ensaio ELISA foi realizado com as três diluições dos anticorpos e com as amostras diluídas 1:2. As demais etapas foram realizadas de acordo com o protocolo descrito no item 2, com exceção da incubação do anticorpo de captura, que foi realizada *overnight* a 4°C e a leitura espectrofotométrica que foi realizada nos comprimentos de onda de 450nm e 630nm. Os resultados deste teste estão demonstrados no **Gráfico 3**.

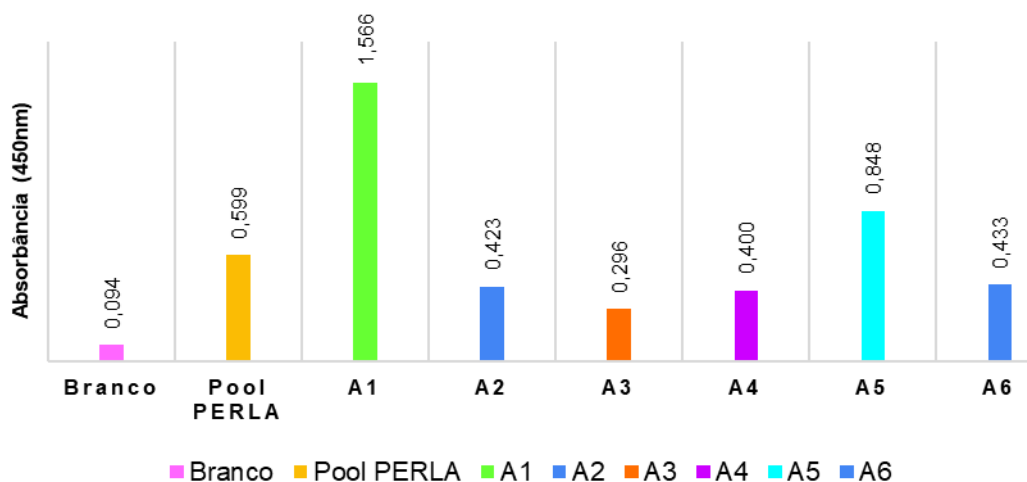
Gráfico 3 – Diferentes diluições do anticorpo de captura e da amostra

A sensibilidade do ensaio foi mantida nas três diluições testadas. Como o próximo teste também envolveria a diluição do anticorpo de detecção, era esperado uma redução adicional nas absorbâncias devido à diluição combinada dos anticorpos. Por isso, optou-se por selecionar, para a próxima etapa, a diluição de 1:4 (500ng/mL) do anticorpo de captura e utilizar amostras não diluídas. A decisão de utilizar amostras não diluídas levou em consideração o trabalho adicional necessário para realizar as diluições das amostras, buscando otimizar o processo.

2.4. Diluição do anticorpo de captura e do anticorpo de detecção

O quarto teste teve como objetivo avaliar a viabilidade de diluição do anticorpo de captura e do anticorpo de detecção. Foram utilizadas como amostras o *pool*/ PERLA e amostras de plasma heparinizado de voluntários (A1 a A6). Em um ensaio ELISA foi testada a combinação da diluição 1:4 (500ng/mL) do anticorpo de captura e a diluição 1:4 (25ng/mL) do anticorpo de detecção. As demais etapas foram realizadas de acordo com o protocolo descrito no item 2, com exceção da incubação do anticorpo de captura, que foi realizada *overnight* a 4°C e a leitura espectrofotométrica que foi realizada nos comprimentos de onda de 450nm e 630nm. Os resultados deste teste estão demonstrados no **Gráfico 4**.

Gráfico 4 – Absorbâncias obtidas utilizando a concentração de 500ng/mL do anticorpo de captura e 25ng/mL do anticorpo de detecção

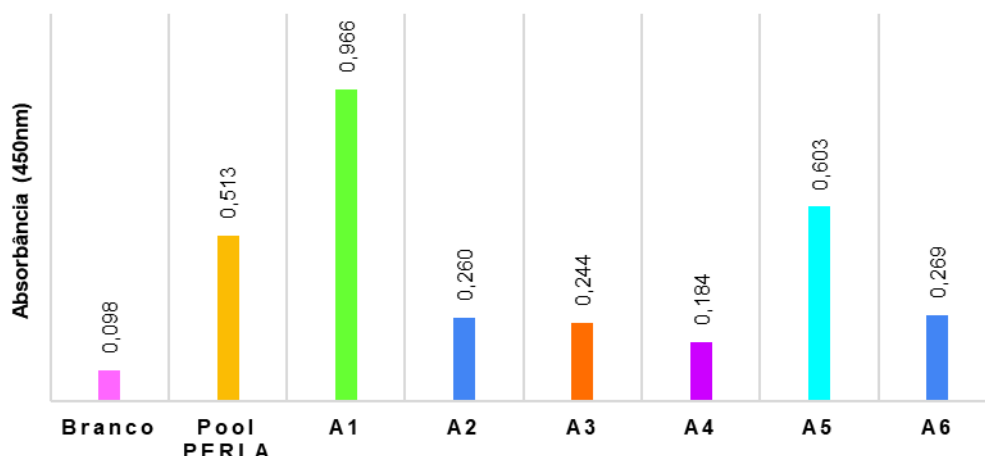


A sensibilidade do ensaio foi satisfatória. Em função disso, as concentrações dos anticorpos utilizadas foram mantidas no próximo teste.

2.5. Avaliação das condições de tempo e temperatura de incubação da amostra

O quinto teste teve como objetivo avaliar a viabilidade de redução do tempo de incubação da amostra por meio do aumento da temperatura de incubação. Foram utilizadas como amostras o *pool*/ PERLA e amostras de plasma heparinizado de voluntários (A1 a A6). Em um ensaio ELISA, as amostras foram incubadas na estufa por uma hora (37°C). Além disso, utilizou-se a diluição 1:4 (500ng/mL) do anticorpo de captura e a diluição 1:4 (25ng/mL) do anticorpo de detecção. As demais etapas foram realizadas de acordo com o protocolo descrito no item 2, com exceção da incubação do anticorpo de captura, que foi realizada *overnight* a 4°C e a leitura espectrofotométrica que foi realizada nos comprimentos de onda de 450nm e 630nm. Os resultados deste teste estão demonstrados no **Gráfico 5**.

Gráfico 5 – Absorbâncias obtidas incubando a amostra na estufa por 1 hora

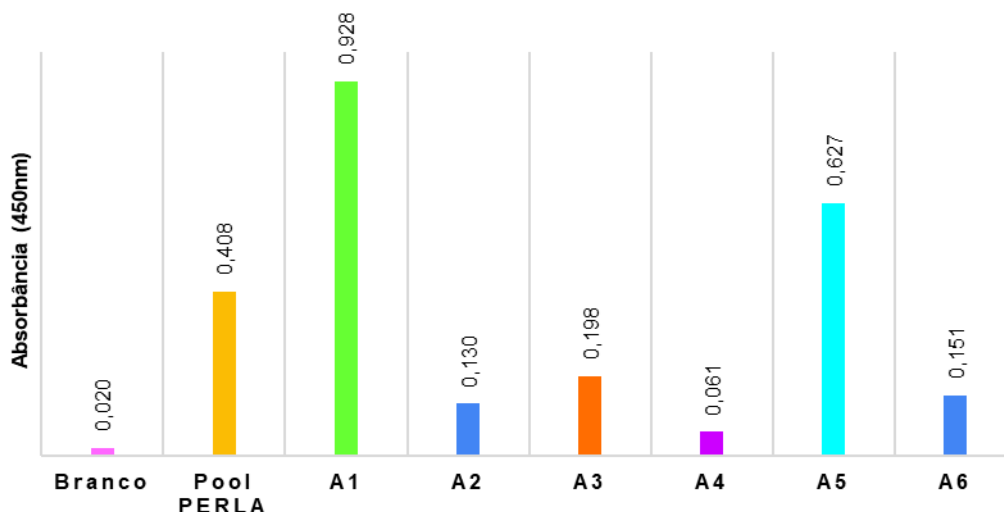


A incubação das amostras na estufa por uma hora não afetou a sensibilidade do teste. Em função disso, essa condição foi mantida no próximo teste.

2.6. Avaliação das condições de tempo e temperatura de incubação do anticorpo de detecção e da amostra

O sexto teste teve como objetivo avaliar a viabilidade de redução do tempo de incubação do anticorpo de detecção, além da redução do tempo de incubação da amostra, por meio do aumento da temperatura de incubação de ambas as etapas. Foram utilizadas como amostras o *pool* PERLA e amostras de plasma heparinizado de voluntários (A1 a A6). Em um ensaio ELISA as amostras e o anticorpo de detecção foram incubados na estufa (37°C) por uma hora. Além disso, utilizou-se a diluição 1:4 (500ng/mL) do anticorpo de captura combinada com a diluição 1:4 (25ng/mL) do anticorpo de detecção. As demais etapas foram realizadas de acordo com o protocolo descrito no item 2, com exceção da incubação do anticorpo de captura, que foi realizada *overnight* a 4°C e a leitura espectrofotométrica que foi realizada nos comprimentos de onda de 450nm e 630nm. Os resultados deste teste estão demonstrados no **Gráfico 6**.

Gráfico 6 – Absorbâncias obtidas incubando as amostras e o anticorpo de detecção na estufa por 1 hora



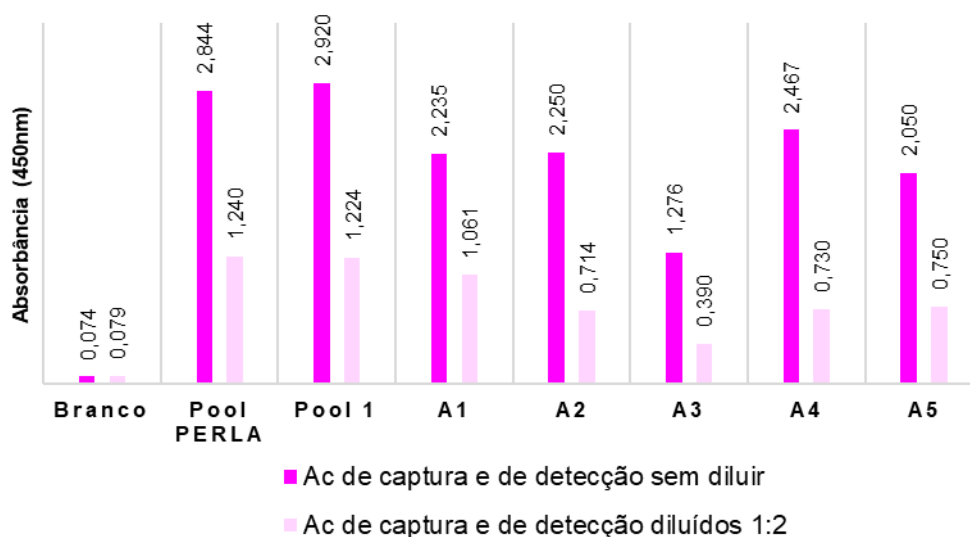
As absorbâncias da amostra A2, A3, A4 e A6 ficaram próximas às absorbâncias do branco. Diante disso, na próxima etapa optou-se por usar a diluição 1:1 (2000ng/mL para o anticorpo de captura e 100ng/mL para o anticorpo de detecção) e 1:2 (1000ng/mL para o anticorpo de captura e 50ng/mL para o anticorpo de detecção), ao invés da diluição 1:4 (500ng/mL para o anticorpo de captura e 25ng/mL para o anticorpo de detecção).

2.7. Avaliação das condições de tempo e temperatura de incubação da amostra e do anticorpo de detecção e comparação do uso dos anticorpos de captura e de detecção sem diluir *versus* diluídos 1:2

O sétimo teste teve como objetivo avaliar a viabilidade de redução do tempo de incubação da amostra e do anticorpo de detecção, por meio do aumento da temperatura de incubação de ambas as etapas, associada ou não a diluição 1:2 dos anticorpos de captura e de detecção. Foram utilizadas como amostras o *pool* PERLA e amostras de plasma heparinizado de voluntários (A1 a A6). Um ensaio ELISA foi realizado utilizando-se as concentrações do anticorpo de captura e de detecção recomendadas pela fabricante (2000ng/mL e 100ng/mL, respectivamente). E um segundo ensaio ELISA foi realizado utilizando-se as diluições 1:2 do anticorpo de captura e de detecção (1000ng/mL e 50ng/mL, respectivamente). Além disso, as amostras e o anticorpo de detecção foram incubados na estufa (37°C) por uma hora

nos dois ensaios ELISA. As demais etapas foram realizadas de acordo com o protocolo descrito no item 2, com exceção da incubação do anticorpo de captura, que foi realizada *overnight* a 4°C e a leitura espectrofotométrica que foi realizada nos comprimentos de onda de 450nm e 630nm. Os resultados deste teste estão demonstrados no **Gráfico 7**.

Gráfico 7 – Absorbâncias obtidas incubando as amostras e o anticorpo de detecção na estufa por 1 hora em duas condições de diluição dos anticorpos de captura e de detecção



O ensaio manteve a sensibilidade em ambas condições testadas. Com isso, avançou-se para a avaliação da curva de calibração.

2.8. Curva de calibração: comparação do uso dos anticorpos de captura e detecção sem diluir *versus* diluídos 1:2

O oitavo teste teve o objetivo de verificar se as concentrações amostras estavam dentro do intervalo de detecção do ensaio (0–8000pg/mL), utilizando os anticorpos sem diluir e diluídos 1:2. Foram utilizadas como amostras o padrão (Padrão PCSK9 humana recombinante – R&D Systems®), o *pool* PERLA, o *pool* 1 e amostras de plasma heparinizado de voluntários (A1 e A2). Em um ensaio ELISA foram realizadas diluições seriadas do padrão de PCSK9 para que fossem obtidos sete pontos de calibração, com a concentração de nível mais elevado de 8000pg/mL. Nesse ensaio, seguiu-se o protocolo do fabricante. Ou seja, utilizou-se o anticorpo de captura na concentração de 2000ng/mL e o anticorpo de detecção na concentração de 100ng/mL. Em um segundo ensaio ELISA, a curva padrão foi realizada com o

anticorpo de captura diluído a 1:2 (1000ng/mL) e o anticorpo de detecção diluído a 1:2 (50ng/mL). As demais etapas foram realizadas de acordo com o protocolo descrito no item 2, com exceção da incubação do anticorpo de captura, que foi realizada *overnight* a 4°C e a leitura espectrofotométrica que foi realizada nos comprimentos de onda de 450nm e 630nm. Os resultados deste teste estão demonstrados nos **Gráficos 8, 9 e 10**.

Gráfico 8 – Curva de calibração obtida utilizando a diluição 1:1 dos anticorpos de captura e de detecção

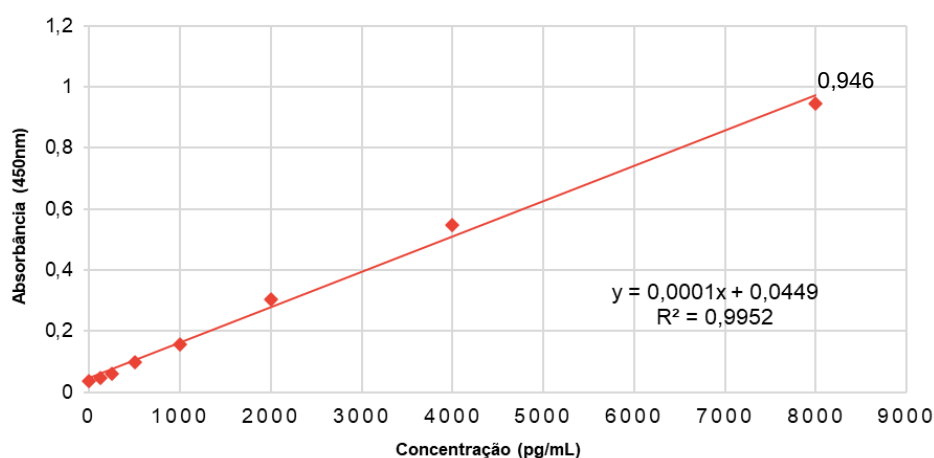


Gráfico 9 – Curva de calibração obtida utilizando a diluição 1:2 dos anticorpos de captura e de detecção

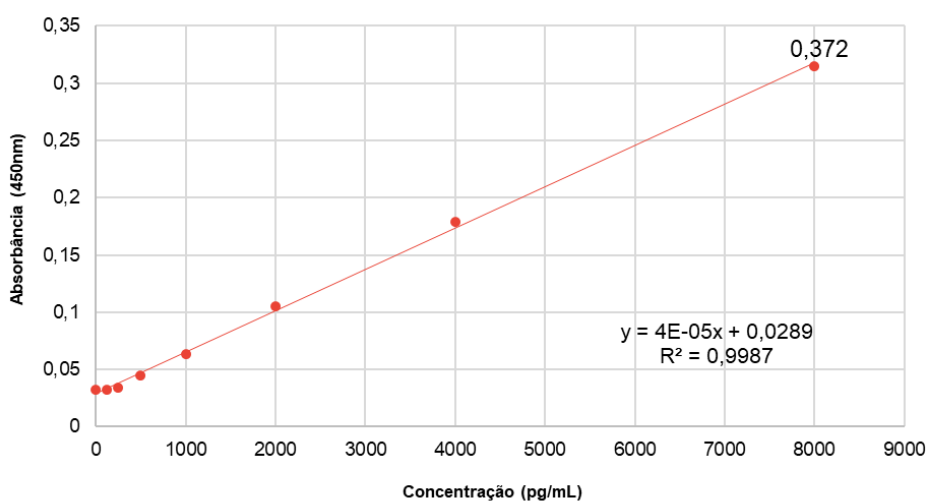
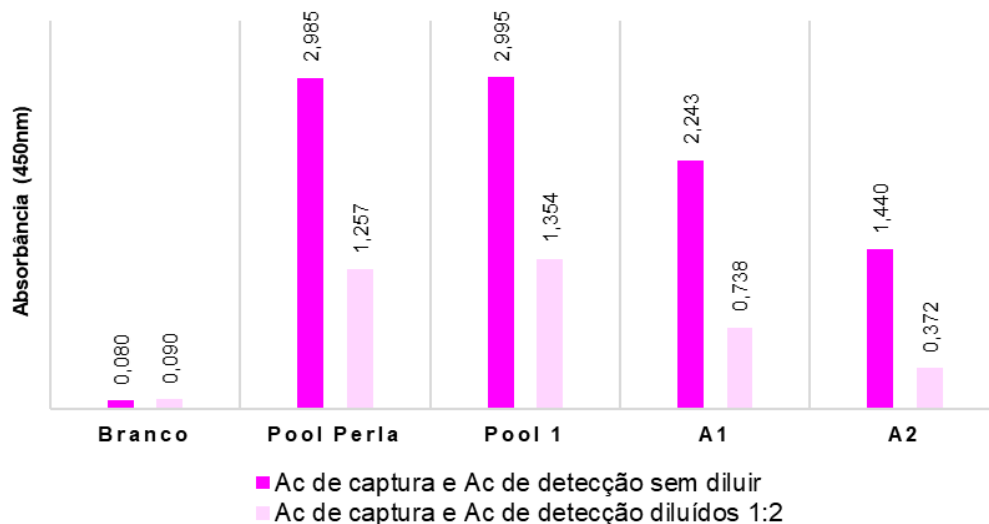


Gráfico 10 – Absorbâncias das amostras obtidas utilizando diferentes concentrações dos anticorpos de captura e de detecção



Tanto na curva obtida utilizando o anticorpo sem diluir, quanto na curva obtida utilizando o anticorpo diluído, os limites superiores do intervalo de detecção do ensaio foram menores que as absorbâncias das amostras.

2.9. Ampliação da curva de calibração

O nono teste teve como objetivo ampliar o intervalo da curva de calibração (0pg/mL – 30000pg/mL), de modo a garantir que as absorbâncias obtidas das amostras estivessem dentro do intervalo de detecção do ensaio. Para isso, foram realizadas diluições seriadas do padrão da PCSK9 para que fossem obtidos nove pontos de calibração, com a concentração de nível mais elevado de 30000pg/mL. Foram utilizadas como amostras o padrão (Padrão PCSK9 humana recombinante – R&D Systems®), o *pool* PERLA, o *pool* 1 e amostras de plasma heparinizado de voluntários (A1 a A5). Um ensaio ELISA foi realizado seguindo o protocolo do fabricante. E um segundo ensaio ELISA foi realizado utilizando-se a diluição 1:2 do anticorpo de captura (1000ng/mL) e a diluição 1:2 do anticorpo de detecção (50ng/mL). As demais etapas foram realizadas de acordo com o protocolo descrito no item 2, com exceção da incubação do anticorpo de captura, que foi realizada *overnight* a 4°C e a leitura espectrofotométrica que foi realizada nos comprimentos de onda de 450nm e 630nm. Os resultados deste teste estão demonstrados nos **Gráficos 11, 12 e 13**.

Gráfico 11 – Curva de calibração obtida utilizando a diluição a diluição 1:1 dos anticorpos de captura e de detecção, de acordo com o protocolo do fabricante

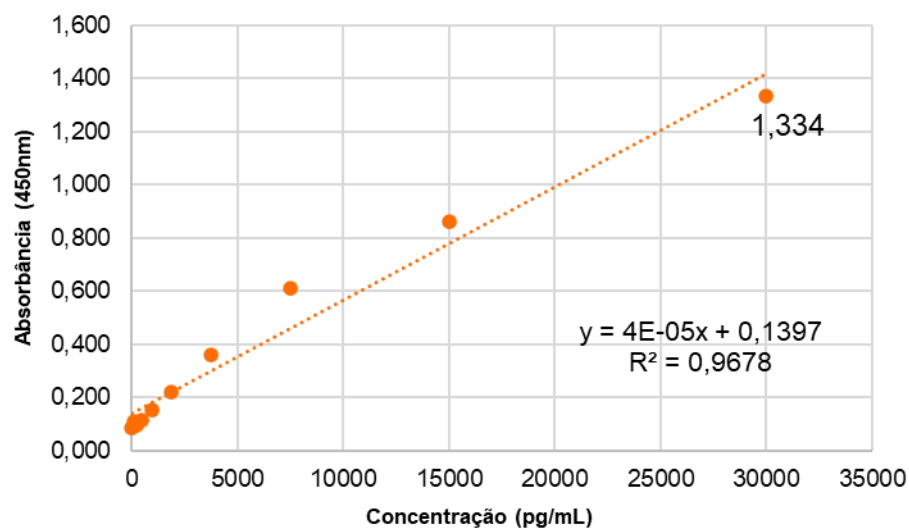


Gráfico 12 – Curva de calibração obtida utilizando a diluição a diluição 1:2 dos anticorpos de captura e de detecção

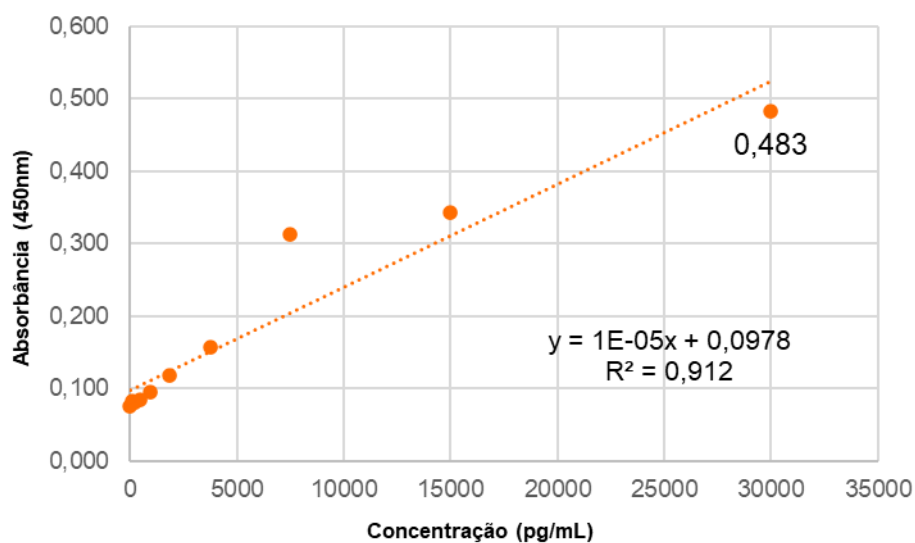
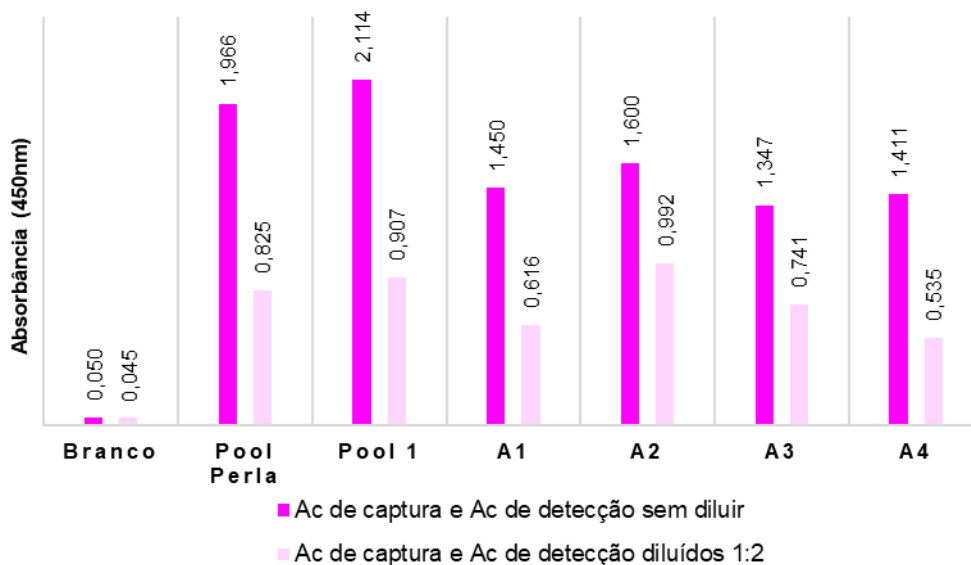


Gráfico 13 – Absorbâncias das amostras obtidas utilizando diferentes concentrações dos anticorpos de captura e de detecção



Tanto na curva obtida utilizando o anticorpo sem diluir, quanto na curva obtida utilizando o anticorpo diluído, as absorbâncias das amostras ultrapassaram os limites superiores do intervalo de detecção do ensaio. Além disso, os coeficientes de determinação (R^2) das duas curvas foram baixos, sugerindo uma ampla dispersão nos pontos da curva padrão, comprometendo a precisão e a confiabilidade na interpolação das concentrações das amostras.

2.10. Curva de calibração: avaliação das condições de tempo e temperatura do anticorpo de detecção e da estreptavidina-HRP e diluição da amostra

O décimo teste teve dois objetivos. O primeiro foi avaliar a curva de calibração ampliada (0pg/mL – 30000pg/mL), sob as condições de redução do tempo de incubação da amostra e do anticorpo de detecção, por meio do aumento da temperatura de incubação de ambas as etapas, além do aumento da temperatura de incubação da estreptavidina-HRP (estufa – 37°C). Para isso, foram realizadas diluições seriadas do padrão PCSK9 humana recombinante (R&D Systems®) para que fossem obtidos nove pontos de calibração, com a concentração de nível mais elevado de 30000pg/mL. Um ensaio ELISA foi realizado seguindo o protocolo do fabricante. E um segundo ensaio ELISA foi realizado incubando-se a amostra e o anticorpo de detecção por uma hora na estufa (37°C) e a estreptavidina-HRP por 20 minutos na estufa (37°C). As demais etapas foram realizadas de acordo com o protocolo descrito

no item 2, com exceção da incubação do anticorpo de captura, que foi realizada *overnight* a 4°C e a leitura espectrofotométrica que foi realizada nos comprimentos de onda de 450nm e 630nm. Os resultados deste teste estão demonstrados nos **Gráficos 14 e 15**.

Gráfico 14 – Curva de calibração obtida seguindo o protocolo do fabricante

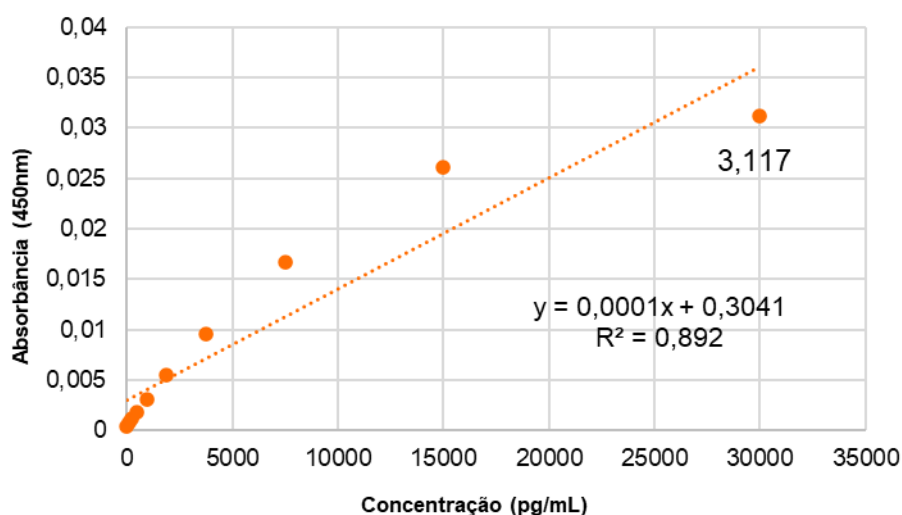
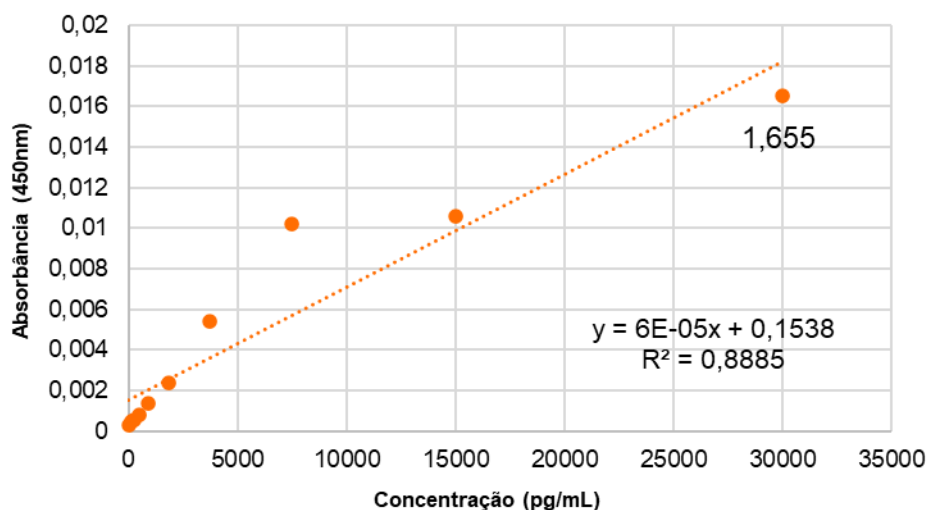


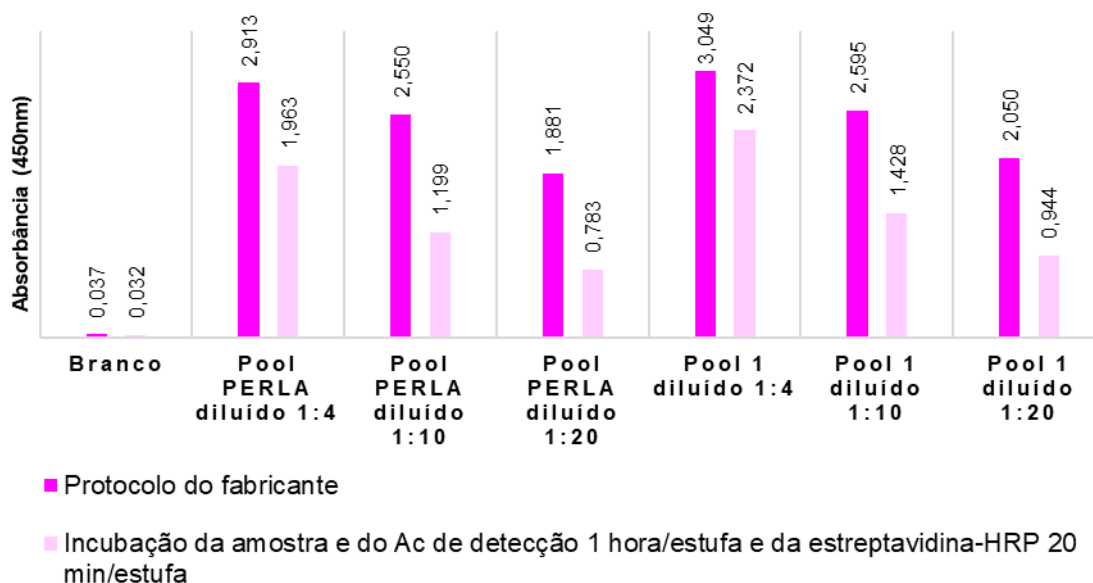
Gráfico 15 – Curva de calibração obtida incubando as amostras e anticorpo de detecção na estufa por 1 hora e a estreptavidina-HRP na estufa por 20 minutos



O segundo objetivo desse teste foi avaliar a viabilidade de diluição das amostras, incubando as amostras e o anticorpo de detecção na estufa por 1 hora e a estreptavidina-HRP na estufa (37°C) por 20 minutos. Para isso, foram testadas três diluições da amostra (1:4, 1:10 e 1:20). Foram utilizadas como amostras o *pool* PERLA e o *pool* 1. Um ensaio ELISA foi realizado seguindo o protocolo do fabricante. E um segundo ensaio ELISA foi realizado incubando-se a amostra e o anticorpo de

detecção por uma hora na estufa (37°C) e a estreptavidina-HRP por 20 minutos na estufa (37°C). As demais etapas foram realizadas conforme o protocolo descrito no item 2, com exceção da incubação do anticorpo de captura, que foi realizada *overnight* a 4°C e a leitura espectrofotométrica que foi realizada nos comprimentos de onda de 450nm e 630 nm. Os resultados deste teste estão demonstrados no **Gráfico 16**.

Gráfico 16 – Absorbâncias das amostras em diferentes diluições, comparando o protocolo do fabricante *versus* a incubação da amostra e do anticorpo de detecção por 1 hora na estufa e incubação da estreptavidina-HRP por 20 minutos na estufa



Os coeficientes de determinação (R^2) das duas curvas de calibração foram baixos, sugerindo uma ampla dispersão nos pontos da curva padrão, comprometendo a precisão e a confiabilidade na interpolação das concentrações das amostras. Em relação ao teste das diluições das amostras, o ensaio manteve sensibilidade em todas as condições testadas.

3. Alterações nos parâmetros do ensaio

Como não foi possível obter uma curva de calibração satisfatória utilizando os anticorpos de captura e detecção diluídos 1:2 e nem pela redução dos períodos de incubação da amostra e do anticorpo de detecção e aumento da temperatura de incubação da estreptavidina-HRP, optou-se por utilizar as concentrações dos anticorpos, os tempos e as temperaturas de incubação da amostra, anticorpo de detecção e estreptavidina-HRP recomendados pelo fabricante. As alterações implementadas em relação ao protocolo original foram:

- Incubação do anticorpo de captura *overnight* a 4°C (geladeira).
- Incubação a temperatura ambiente controlada (20°C).
- Diluição da amostra 1:50 no reagente diluente.
- Medição espectrofotométrica em 450nm (comprimento de onda primário) e 630nm (comprimento de onda secundário).

ANEXO I – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP – UFMG**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS****PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DA EMENDA**

Título da Pesquisa: Caracterização genética, imunológica, hemostática, bioquímica e angiogênica de mulheres após terem apresentado pré-eclâmpsia em suas gestações.

Pesquisador: Patrícia Nessralla Alpoim

Área Temática: versão 4

CAAE: 54887721.0.0000.5149

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.547.421

Apresentação do Projeto:

A pré-eclâmpsia (PE) é um fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV) ao longo da vida. Mulheres que tiveram alguma doença hipertensiva da gravidez têm um risco aumentado de 2 a 8 vezes para o desenvolvimento de hipertensão crônica no futuro, principalmente no período de 1 a 20 anos após o parto. Serão recrutadas mulheres que apresentaram PE em suas gestações há 2-14 anos, a fim de avaliar parâmetros laboratoriais genéticos, imunológicos, hemostáticos bioquímicos, angiogênicos visando correlacionar com o aparecimento e fisiopatologia de doenças crônicas nestas participantes.

Para isso, mulheres que fizeram parte do estudo em pré-eclâmpsia do grupo das professoras Luci e Patrícia, e mulheres que tiveram seus partos realizados no Hospital Sofia Feldman entre os anos de 2008 e 2016, serão convidadas para uma avaliação de aspectos clínicos bem como para a coleta de amostras de sangue e urina.

A hipótese dos pesquisadores é que mulheres que tiveram pré-eclâmpsia apresentam alteração de marcadores laboratoriais relacionados aos aspectos genéticos, imunológicos, hemostáticos, bioquímicos e angiogênicos que podem ser usados na triagem ou no entendimento da fisiopatologia de doenças crônicas nesta população.

A solicitação de apreciação de emenda refere-se à inclusão do Hospital Sofia Feldman como instituição colaboradora da pesquisa, o que irá possibilitar atingir o número de indivíduos estabelecido para a realização das análises laboratoriais propostas (100 mulheres, sendo 50 do grupo caso e 50 do grupo controle), viabilizando sua realização e a obtenção de resultados de maior relevância.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar marcadores sanguíneos relacionados ao perfil genético, imunológico, hemostático, bioquímico e angiogênico de mulheres, 2 a 14 anos após apresentarem PE em suas gestações, e correlacionar com o seu desfecho clínico, bem como de mulheres que não apresentaram PE em suas gestações, após o mesmo período de tempo.

Objetivo Secundário:

- 1) Avaliar, após extração de DNA de leucócitos das mulheres, polimorfismos e mutações de genes responsáveis pela síntese de: mediadores inflamatórios, enzimas relacionadas direta ou indiretamente à via do óxido nítrico e de genes envolvidos na hemostasia e coagulação;
- 2) Determinar os níveis plasmáticos de citocinas pró-inflamatórias e reguladoras de proteínas envolvidas no processo de resolução da inflamação, de marcadores da coagulação, fibrinólise e lesão endotelial, dos anticoagulantes naturais e marcadores da angiogênese;
- 3) Determinar os níveis plasmáticos de: glicose, hemoglobina glicada (HbA1c), insulina, colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL), colesterol, ácido úrico, triglicerídeos e proteína C de alta sensibilidade;
- 4) Determinar os níveis plasmáticos de marcadores de função hepática (aspartatoaminotransferase - AST, alanina aminotransferase - ALT, Gama GT), função renal (uréia, creatinina, ácido úrico, cistatina C e outros), função cardíaca (troponina de alta sensibilidade, peptídeo natriurético tipo B), estresse oxidativo [substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico -TBARS, (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide- MTT), Dimetil Arginina Assimétrica(ADMA) e guanossina3', 5'-cíclica monofosfato (GMP) cíclico];
- 5) Determinar o número de plaquetas circulantes e dos novos parâmetros plaquetários (volume plaquetário médio – MPV, amplitude de variação de tamanho das plaquetas - PDW, e plaquetócrito - PCT) e os agregados plaquetas-leucócitos (PMA, PNA);
- 6) Determinar o número de micropartículas plasmáticas circulantes (endoteliais, leucocitárias, plaquetárias e eritrocitárias);
- 7) Investigar o grupo sanguíneo ABO.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:**Riscos:**

Na coleta de sangue pode ocorrer uma leve dor localizada e formação de um pequeno hematoma. O sangue será coletado em três tipos de tubos e um pequeno desconforto pode ocorrer na troca de tubos. Para minimizar esse desconforto e a formação de hematomas, a coleta de sangue será realizada por um profissional experiente. Serão utilizados agulhas e tubos descartáveis, de forma que não há risco de contaminação. Após a coleta, será feita a compressão local para garantir o estancamento do sangramento. Não será realizada nova coleta de sangue.

Benefícios:

As participantes terão acesso ao resultado dos seus exames laboratoriais, e poderão obter qualquer esclarecimento desejado sobre eles. A avaliação laboratorial auxiliará na prevenção do desenvolvimento de hipertensão crônica, aterosclerose e outras doenças cardiovasculares, como o infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico (AVE) e embolia pulmonar, por exemplo. Além disso, a participação no estudo permitirá uma melhor avaliação do risco cardiovascular de mulheres expostas à pré-eclâmpsia nesta população.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto é meritório e relevante para área de obstetrícia e da saúde da mulher em geral.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto assinada.

Carta de anuência do Hospital Sofia Feldman.

Parecer favorável da Câmara do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG.

Roteiro de investigação.

Cronograma atualizado.

Termo de biorrepositório.

Justificativa da emenda.

TCLES em forma de carta convite adequados, incluindo informações referentes ao CEP do Hospital SofiaFeldman.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pelo exposto, somos pela aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o CEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1966905_E2.pdf	14/06/2022 15:40:34		Aceito
Outros	CartaRespostaCepSofiaFeldman.pdf	14/06/2022 15:33:28	THAISE EMILIA MOREIRA DA SILVA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEs.pdf	14/06/2022 15:15:29	THAISE EMILIA MOREIRA DA SILVA	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	14/06/2022 15:15:13	THAISE EMILIA MOREIRA DA SILVA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_emenda.pdf	14/06/2022 15:14:29	THAISE EMILIA MOREIRA DA SILVA	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	TermodeConstituicaodeBiorrepositorio.pdf	05/05/2022 16:00:25	THAISE EMILIA MOREIRA DA SILVA	Aceito
Outros	Justificativa_da_emenda.pdf	18/04/2022 21:59:33	THAISE EMILIA MOREIRA DA SILVA	Aceito
Outros	Ficha_anamnese.pdf	18/04/2022 16:06:04	THAISE EMILIA MOREIRA DA SILVA	Aceito
Declaração de concordância	Anuencia_Sofia_Feldman.pdf	18/04/2022 16:04:07	THAISE EMILIA MOREIRA DA SILVA	Aceito
Outros	Parecer_consubistenciado_ACT.pdf	03/01/2022 20:35:36	THAISE EMILIA MOREIRA DA SILVA	Aceito
Outros	Declaracao_aprovacao_ACT.pdf	20/12/2021 00:43:53	THAISE EMILIA MOREIRA DA SILVA	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto1.pdf	10/12/2021 09:51:43	THAISE EMILIA MOREIRA DA SILVA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 27 de julho de 2022

Assinado por:
Críssia Carem Paiva Fontainha
 (Coordenador(a))

ANEXO II – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP – FHEMIG



FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO
ESTADO DE MINAS GERAIS -
FHEMIG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: COVID-19 E GESTAÇÃO: ALTERAÇÕES LABORATORIAIS, COMPLICAÇÕES TROMBÓTICAS E DESFECHOS MATERNOS E FETAIS

Pesquisador: Patrícia Nessler Alpoim

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 46792921.3.3002.5119

Instituição Proponente: Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais - FHEMIG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.906.245

Apresentação do Projeto:

Estudo reencaminhado para solução de pendências.

De acordo com o documento PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1791325:

A pandemia COVID-19 é o mais importante desafio no mundo hoje em dia. As gestantes é um grupo de pacientes suscetíveis e requerem um atendimento diferenciado, principalmente por causa de sua resposta imunológica e fisiológica alterada que propicia a ocorrência de infecções. Embora o incipiente conhecimento da patogênese da COVID-19, dados clínicos em andamento sugerem uma associação entre a infecção pelo SARS-CoV-2 e o aparecimento de condições potencialmente fatais para mulheres grávidas e seus bebês, como a PE. Dessa forma, neste estudo propomos explorar possíveis alterações em exames laboratoriais de rotina causados pela COVID-19 na gravidez a fim de ajudar no entendimento da fisiopatologia da doença bem como levantar os melhores biomarcadores de prognóstico e monitorização e avaliar possíveis associações com outras complicações fetais e maternos, como a pré-eclâmpsia.

Objetivo da Pesquisa:

De acordo com o documento PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1791325:

Objetivo Primário: Levantamento e análise de dados (clínicos, epidemiológicos, bioquímicos,

Endereço: Alameda Vereador Álvaro Celso, 100

Bairro: Bairro Santa Efigênia

CEP: 30.150-260

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3239-9552

Fax: (31)3239-9552

E-mail: cep@fhemig.mg.gov.br



FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO
ESTADO DE MINAS GERAIS -
FHEMIG



Continuação do Parecer: 4.906.245

hematológicos, imunológicos e correlação com desfechos maternos e perinatais) do prontuário de gestantes com RT-PCR positivo para infecção por SARS-CoV-2 e comparação com gestantes com RT-PCR negativo (grupo controle) atendidas no Hospital Julia Kubitschek em Belo Horizonte, Minas Gerais durante o segundo semestre de 2021.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com o documento PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1791325:

Riscos: Considerando o risco inerente de quebra de sigilo e confidencialidade, por se tratar de informações de prontuário, estratégias de análise e coleta dos dados de prontuário bem como o armazenamento dos mesmos serão adotadas. Para o presente projeto apenas o docente e o coordenador do projeto terão acesso aos prontuários e coletas de dados, será adotada uma codificação em substituição ao nome de cada participante e os dados serão registrados e armazenados em arquivo codificado com senha.

Benefícios: *Contribuição no entendimento da COVID-19 em gestantes. **IMPACTO:** Compreender o papel das alterações hemostáticas e inflamatórias na patogênese da doença. *Contribuição no entendimento das consequências da COVID-19. **IMPACTO:** Contribuir para a monitoração de tais consequências, adoção de medidas terapêuticas adequadas, e melhor qualidade de vida dos recém-nascidos. *Possibilitar a identificação de biomarcadores potencialmente úteis na monitoração da COVID-19. **IMPACTO:** Contribuir para a conduta terapêutica adequada e para a redução da mortalidade das gestantes, fetos e recém-nascidos. *Possibilitar a identificação de novos alvos farmacológicos. **IMPACTO:** Sugerir novas condutas terapêuticas a serem implementadas com potenciais benefícios na monitoração das gestantes com COVID-19.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

- Projeto: Relevante, pertinente e de valor científico;
- Metodologia: Adequada para se alcançar o objetivo proposto;
- Currículos: Com competência reconhecida para a condução do estudo;
- Cronograma: Adequado;
- Aspectos Éticos: O projeto cumpre a Res.466/2012 do CNS-MS.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Projeto: devidamente descrito.
- TCLE: adequado.

Endereço: Alameda Vereador Álvaro Celso, 100

Bairro: Bairro Santa Efigênia

CEP: 30.150-260

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3239-9552

Fax: (31)3239-9552

E-mail: cep@fhemig.mg.gov.br



FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO
ESTADO DE MINAS GERAIS -
FHEMIG



Continuação do Parecer: 4.906.245

- FR: devidamente preenchida e assinada.

- Orçamento: adequado.

Recomendações:

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/2012), o CEP-FHEMIG recomenda aos Pesquisadores:

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil;
2. Informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da Pesquisa;
3. Apresentar na forma de NOTIFICAÇÃO relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (RELATÓRIO FINAL).

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

SOLUÇÃO DE PENDÊNCIAS:

PENDÊNCIA 1. Corrigir no TCLE o contato do CEP-FHEMIG (...)

SOLUÇÃO (1) Feita a correção.

PENDÊNCIA 2. Orçamento: descrever custos com deslocamento, materiais de escritório, etc.

SOLUÇÃO (2) Os custos relacionados ao deslocamento e aos materiais de escritório serão arcados pelos próprios pesquisadores que farão as coletas de dados.

PENDÊNCIA 3. Descrever melhor os grupos de estudo e controle, uma vez que as pacientes com resultado positivo para COVID-19 não ficam no mesmo local (unidade hospitalar) que as pacientes com resultado negativo.

SOLUÇÃO (3) Enviada a correção via carta de pendência.

- O estudo pode ser realizado com base na metodologia e nos documentos apresentados.

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Alameda Vereador Álvaro Celso, 100

Bairro: Bairro Santa Efigênia

CEP: 30.150-260

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3239-9552

Fax: (31)3239-9552

E-mail: cep@fhemig.mg.gov.br



FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO
ESTADO DE MINAS GERAIS -
FHEMIG



Continuação do Parecer: 4.906.245

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1791325.pdf	11/08/2021 15:42:10		Aceito
Outros	CartaRespostaCoepFHEMIG.pdf	09/08/2021 20:45:48	Patrícia Nessralla Alpoim	Aceito
Outros	CartaEmenda.pdf	30/06/2021 13:02:47	Patrícia Nessralla Alpoim	Aceito
Outros	ParecertecnicoFHEMIG.pdf	29/06/2021 16:43:43	Patrícia Nessralla Alpoim	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEresponsaveispelasmenoresde18anos.pdf	02/06/2021 15:16:05	Patrícia Nessralla Alpoim	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEmaioresde18anos.pdf	02/06/2021 15:15:52	Patrícia Nessralla Alpoim	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALEmenoresde18anos.pdf	02/06/2021 14:53:49	Patrícia Nessralla Alpoim	Aceito
Outros	fichaclinicaCOEP.pdf	02/06/2021 14:46:40	Patrícia Nessralla Alpoim	Aceito
Outros	Folharostocerta.pdf	02/06/2021 14:44:32	Patrícia Nessralla Alpoim	Aceito
Outros	CartaRespostaCoep.pdf	02/06/2021 14:38:49	Patrícia Nessralla Alpoim	Aceito
Outros	CartaanuenciaFHEMIGHJK.pdf	13/05/2021 15:55:26	Patrícia Nessralla Alpoim	Aceito
Outros	TCUD.pdf	28/04/2021 14:22:42	Patrícia Nessralla Alpoim	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetocovidgestacaoCOEP.pdf	20/04/2021 16:31:38	Patrícia Nessralla Alpoim	Aceito
Outros	ParecerACTCOEP.pdf	20/04/2021 16:20:40	Patrícia Nessralla Alpoim	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Alameda Vereador Álvaro Celso, 100

Bairro: Bairro Santa Efigênia

CEP: 30.150-260

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3239-9552

Fax: (31)3239-9552

E-mail: cep@fhemig.mg.gov.br



FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO
ESTADO DE MINAS GERAIS -
FHEMIG



Continuação do Parecer: 4.906.245

BELO HORIZONTE, 14 de Agosto de 2021

Assinado por:
Vanderson Assis Romualdo
(Coordenador(a))

Endereço: Alameda Vereador Álvaro Celso, 100

Bairro: Bairro Santa Efigênia

CEP: 30.150-260

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3239-9552

Fax: (31)3239-9552

E-mail: cep@fhemig.mg.gov.br

ANEXO III – PRODUÇÕES DO MESTRADO

Carta de submissão do artigo *“Preeclampsia beyond pregnancy: why follow-up of women matters?”*

Isabella Macedo <mcostaisabella@gmail.com>

Enc: Women & Health - WWAH-2024-0487 has been unsubmitted

1 message

patricia nessralla <patnessralla@yahoo.com.br>
Reply-To: patricia nessralla <patnessralla@yahoo.com.br>
To: Isabella Macedo <mcostaisabella@gmail.com>

Mon, Jun 24, 2024 at 11:04 AM

Yahoo Mail: Busque, organize e aumente sua produtividade

----- Mensagem encaminhada -----

De: "Women & Health" <onbehalf@manuscriptcentral.com>**Para:** "patnessralla@yahoo.com.br" <patnessralla@yahoo.com.br>**Cc:****Enviada:** seg., 24 de jun. 2024 às 0:33**Assunto:** Women & Health - WWAH-2024-0487 has been unsubmitted
23-Jun-2024

Dear Dr nessralla:

Your above referenced manuscript, entitled "Preeclampsia beyond pregnancy: why follow-up of women matters?" has been unsubmitted to Women & Health. The editor would like you to address the following items before we consider sending it out for peer review.

An anonymous copy of the manuscript should not contain the acknowledgment, author's contribution, Compliance with Ethical Standards, ethical approval, funding details, disclosure form, data availability statement, ORCID number, and conflict of interest.

Please visit the instructions to authors to complete your submission and re-submit the manuscript for consideration of publication.

To re-submit your manuscript, please go to your author dashboard at <https://rp.tandfonline.com/dashboard/>, locate the manuscript and click 'Resume'.

Sincerely,
Srimathi Anandan
Women & Health Editorial Office

Publicação de artigo, como coautora “*Changes in MicroRNA expression associated with preeclampsia: a systematic review*”



Isabella Macedo <mcostaisabella@gmail.com>

BJMBR - 13988.R2 - Aceito no merito científico

1 message

Journal Office <onbehalfof@manuscriptcentral.com>

Mon, Nov 25, 2024 at 4:14 PM

Reply-To: bjournal@terra.com.br

To: patricianessralla@gmail.com

Cc: anacristinalopesmg@gmail.com, alexandrea_f_28@outlook.com, fernanda.santosm@hotmail.com, mcostaisabella@gmail.com, lucidusse@gmail.com, patricianessralla@gmail.com

25-Nov-2024

Prezada Dra. Patricia Alpoim,

Temos a satisfação de informar que seu manuscrito "13988.R2 - CHANGES IN MICRORNA EXPRESSION ASSOCIATED WITH PREECLAMPSIA: A Systematic Review" foi aprovado quanto ao mérito científico para publicação no Brazilian Journal of Medical and Biological Research.

O processo de publicação do trabalho depende do pagamento de "Publication Fee", e para tanto precisamos das informações abaixo, o mais rapidamente possível.

Para emissão do Boleto Bancário e da Nota Fiscal Eletrônica, precisamos que V.Sa. informe com urgência e clareza, via email ():

1. Em nome de quem deverá ser emitido o Boleto Bancário e a Nota Fiscal Eletrônica. Ambos os documentos serão remetidos conjuntamente a V.Sa., via email. Certifique-se bem antes de fornecer estes dados pois depois de emitida, a Nota Fiscal Eletrônica NÃO poderá ser refeita com outro nome ou instituição.

2. O CNPJ (Pessoa Jurídica) ou o CPF (Pessoa Física) pois é exigência obrigatória para emissão da Nota Fiscal Eletrônica.

3. Usualmente são fixados 15 dias para o pagamento do boleto. Caso V.Sa. necessite de um prazo maior, informe na hora em que enviar os dados.

4. Para qual endereço eletrônico deverão ser remetidos os documentos.

5. O Boleto Bancário e a Nota Fiscal Eletrônica, com os dados fornecidos, deverá ser pago até a data do vencimento. Caso isto não ocorra já existe uma multa inserida no boleto que deverá ser paga por conta do interessado pois NÃO SERÁ POSSÍVEL FAZER CANCELAMENTO OU SUBSTITUIÇÃO DE NENHUM DESTES DOCUMENTOS. Esta medida foi adotada por exigências de órgãos financiadores (Fapesp, CNPq, Capes, Universidades federais, estaduais, etc.).

IMPORTANTE: Após o pagamento da "Publication Fee" o trabalho será preparado de acordo com as normas da revista e será verificado pelo Editor de Estilo de Inglês. O trabalho corrigido e eventuais questões sobre texto, imagens e/ou tabelas serão enviadas a V.Sa. via e-mail.

Somente após recebermos este texto, via email, e após a aprovação pelo editor de estilo seu trabalho receberá a data de aceitação definitiva. Atrasos eventuais serão descontados da data de submissão do trabalho. Neste momento será providenciada a preparação da Prova Gráfica que será lida pela Redatora da revista e enviada para aprovação dos autores. A prova gráfica será publicada pela revista em seu site (www.bjournal.org), junto ao Scielo (www.scielo.br/bjmb) e em PubMed Central (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1733/>). O tempo previsto destes passos é estimado em 30-50 dias.

Estamos à disposição para esclarecer qualquer questão adicional, através do e-mail (bjournal@terra.com.br ou reinaldo.souza@bjournal.com.br).

Contamos com sua compreensão e colaboração. POR FAVOR ACUSE O RECEBIMENTO DESTES EMAIL.

Atenciosamente,

Prof. Roberto César Lima-Júnior
Editor
Brazilian Journal of Medical and Biological Research

Participação no projeto de extensão “Ciência na Preconcepção, Gestação e Puerpério”, no período de 1º de março de 2023 a 1º de fevereiro de 2025

Sistema de Informação da Extensão



PROEX UFMG
Pró-reitoria de Extensão

Bem-vindo(a) Visitante

saír | minha ufmg

Projeto - 404386 - Ciência na Pré-Concepção, Gestação e Puerpério

Imprimir

Identificação	Descrição	Equipe	Atividades Vinculadas	Parcerias	Abrangência	Resultados Alcançados	Histórico	Anexos
---------------	-----------	--------	-----------------------	-----------	-------------	-----------------------	-----------	--------

Participação	Nome	Telefone	E-mail	Vínculo	Período	Carga horária semanal
Coordenador	PATRICIA NESSRALLA ALPOIM (Lattes)	(31) 3409-6893	patnessralla@ufmg.br	Faculdade de Farmácia Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas	01/12/2021 a 28/01/2026	5
Co-coordenador	THAÍSE EMÍLIA MOREIRA DA SILVA	(31) 99349-7678	thaiseemilams@gmail.com	Estudante de Pós-Graduação Análises Clínicas e Toxicológicas (Mestrado)	01/12/2021 a 28/01/2026	5
Voluntário	ANA PAULA SILVA FERREIRA		anapferr@ufmg.br	Estudante de Graduação Biomedicina	09/03/2023 a 28/01/2026	2
Voluntário	FERNANDA NARCISO DIAS		fnd@ufmg.br	Estudante de Graduação Biomedicina	01/09/2023 a 28/01/2026	2
Voluntário	ISABELLA MACEDO COSTA		isabellamacedoc@ufmg.br	Estudante de Pós-Graduação Análises Clínicas e Toxicológicas (Mestrado)	15/03/2023 a 01/04/2025	2
Voluntário	JUSSARA DE SOUZA MAYRINK NOVAIS (Lattes)		jussaramayrink@ufmg.br jussaramayrink@gmail.com	Faculdade de Medicina Departamento de Ginecologia Obstetrícia	20/03/2024 a 01/12/2025	2
Voluntário	VANESSA DUARTE PASA		vduarte2@gmail.com	Estudante de Graduação Biomedicina	09/03/2023 a 28/01/2026	2

Certificado de participação na apresentação da palestra “Incentivo à pesquisa” na Maternidade Odete Valadares (Projeto Gestar Ciência) e Postagens científicas no perfil do projeto Gestar Ciência no Instagram



AGRADECIMENTO

A Maternidade Odete Valadares, em nome de toda equipe de enfermagem, agradece a

Isabella Macedo Costa

pela palestra “Incentivo à pesquisa” proporcionada aos profissionais de Enfermagem no ano de 2023.

Belo Horizonte, 11 de maio de 2023

Cintia A. Costa e Silva
COORDENADORA TÉCNICA DE ENFERMAGEM
CONEX - MD - 371.345-038
RTP/UFMG

Cintia Aparecida Costa e Silva
RT de Enfermagem

Renata Maria S. Santos
COORDENADORA DO NEP
NASP: 10945103
MON/UFMG

Renata Maria Silva Santos
Coordenadora do NEP



Estande interativo na Praça de Serviços da UFMG, realizado no dia 22 de novembro de 2023, em homenagem ao dia mundial da prematuridade



Estande interativo na Praça de Serviços da UFMG sobre pré-eclâmpsia, diabetes gestacional e hipertensão gestacional, realizado no dia 21 de agosto de 2024



Certificado de produção de Tema Livre para o 56º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial



56º Congresso Brasileiro
de Patologia Clínica
Medicina Laboratorial

Exposição Técnico-Científica

10 a 13 de setembro de 2024
Salvador - BA | Centro de Convenções Salvador

O PAPEL DA PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL NA SUSTENTABILIDADE DOS SISTEMAS DE SAÚDE

CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO



Isabella Macedo Costa

Participou na qualidade de autor responsável do tema livre: **Autoanticorpo do receptor 1 da angiotensina 2 (A2R1Ab) em mulheres com histórico de PE:**

Associação com o risco de doenças cardiovasculares?

tendo como co-autores:

Letícia Gonçalves Silva, Thaíse Emilia Moreira da Silva, Ana Paula Silva Ferreira, Patricia Nessralla

LEONARDO VASCONCELLOS
Diretor de Ensino da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
Belo Horizonte 2024-2025

ANDRÉ MARIO DOS SANTOS
Diretor Científico da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
Belo Horizonte 2024-2025

FÁBIO SODRÉ
Presidente do 56º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial

ALVARO PULCINELLA JUNIOR
Presidente da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
Belo Horizonte 2024-2025

**Certificado de participação no 56º Congresso Brasileiro de Patologia
Clínica/Medicina Laboratorial**



56º Congresso Brasileiro
de Patologia Clínica
Medicina Laboratorial

Exposição Técnico-Científica

10 a 13 de setembro de 2024
Salvador - BA | Centro de Convenções Salvador

O PAPEL DA PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL NA SUSTENTABILIDADE DOS SISTEMAS DE SAÚDE

CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO

REALIZAÇÃO

Realização



Isabella Macedo Costa

Concluiu com sucesso na qualidade de congressista
o 2024 - BA - 56º Congresso Brasileiro de Patologia
Clínica/Medicina Laboratorial

realizado nos dias de 10/09/2024 até 13/09/2024,
totalizando uma carga horária de 31 horas.

LEONARDO VASCONCELOS
Diretor da Escola da Sociedade Brasileira
de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
Belo Horizonte 2024-2025

ANDRÉ MARIO DDI
Diretor Clínico da Sociedade Brasileira
de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
Belo Horizonte 2024-2025

FÁBIO SODRÉ
Presidente do 56º Congresso Brasileiro
de Patologia Clínica/Medicina
Laboratorial

ALVARO PULCHIRELLI JUNIOR
Presidente da Sociedade Brasileira de
Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
Belo Horizonte 2024-2025

Certificado de participação no Simpósio Acadêmico de Biomedicina da UFMG

Verifique o código de autenticidade 97393944.5205060.981246.7.867679912010507342958 em <https://www.even3.com.br/documentos>



Certificado

CONCEDEMOS ESTE CERTIFICADO A

Isabella macedo Costa

por ter participado com êxito do evento X Simpósio Acadêmico de Biomedicina da UFMG, realizado presencialmente entre os dias 16 e 20 de outubro de 2023, e apresentado o trabalho

**AVALIAÇÃO DE ÍNDICES INFLAMATÓRIOS
HEMATOLÓGICOS EM MULHERES APOS TEREM
APRESENTADO PRE-ECLAMPSIA (PE): ESTUDO PERLA-
BRASIL** durante a apresentação de pôster.

Rafaela Terencio Ferreira

RAFAELLA TERCENCIO
FERREIRA

Presidente da XII Gestão do
CABM-UFMG
Comissão Organizadora

Cabm
Centro Acadêmico de Biomedicina
UFMG

UFMG

Patrícia Nessralla Alpoim

PATRÍCIA NESSRALLA
ALPOIM

Coordenadora do Curso de
Biomedicina da UFMG
Comissão Organizadora

**Certificado de participação no 3º Simpósio do Programa de Pós-Graduação
em Análises Clínicas e Toxicológicas**

UF *m* G

3º *Si*ACT



Certifico que **Isabella Macedo Costa** participou como ouvinte do 3º Simpósio do Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais com duração de 03 horas no dia 07 de novembro de 2023.

Belo Horizonte, 10 de novembro de 2023.

Me. Aislander Junio da Silva
Doutorando do PPGACT
Representante Discente do 3º SiACT

Prof. Dr. Adriano de Paula Sabino
Professor do Departamento ACT
Presidente do 3º SiACT

Certificado de participação, como coautora, em Tema Livre no 56º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial



55º

Congresso Brasileiro de
Patologia Clínica Medicina
Laboratorial

32th WASPaLM World Congress

Exposição Técnico-Científica | 5 a 8 de setembro | São Paulo, SP - Pro Magno

CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO

Thaíse Emilia Moreira da Silva

Participou na qualidade de autor responsável do tema livre: **Pré-eclâmpsia e riscos latentes após o parto - Estudo PERLA: Avaliação de Dimero-D e PAI-1**

tendo como co-autores:

Letícia Gonçalves Silva/Isabella Macedo Costa/Ana Paula Silva Ferreira/Luci
Maria Sant'ana Dusse/Jussara de Souza Mayrink Novais/Patrícia Nessralla
Alpoim.


Cristóvão Manguelira
Presidente do
56º CBPC/ML


Leonardo Vasconcellos
Coordenador da Comissão
de Julgamento dos Temas Livres


André Del
Coordenador da Comissão
Científica do 56º CBPC/ML


Walter Alalón
Presidente da WASPaLM


Fábio Brazão
Presidente da SBPC/ML
Bônus 2022/2023

Realização:



**Certificado de participação, como coautora, no trabalho apresentado no Congresso ISTH
2024: Conferência sobre Trombose e Hemostasia**

Session: Thrombotic complications in pregnancy

OC 31.4 - Lipid profile, D-dimer, PAI-1, and thrombin generation in women with a history of pre-eclampsia - PERLA Brazil Study

 Monday, June 24, 2024  10:15 – 10:30 ICT  Room: Ballroom B1

Presenting Author(s)



Thaíse Emilia Moreira da Silva

Master in Clinical and Toxicological Analyzes
Department of Clinical and Toxicological Analysis - Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Brazil
Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Co-Author(s)

Isabella Costa



Student
Department of Clinical and Toxicological Analysis - Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Brazil
Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Ana Ferreira



Graduation Student
Department of Clinical and Toxicological Analysis - Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Brazil
Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Co-Author(s)

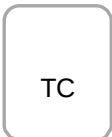
Letícia Silva



Master in Clinical and Toxicological Analysis
Department of Clinical and Toxicological Analysis - Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Brazil
Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Co-Author(s)

Thays Costa



Graduation Student
Department of Clinical and Toxicological Analysis - Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Brazil
Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Fabiana Bonfim



Student
Department of Clinical and Toxicological Analysis - Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Brazil
Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Jussara Novais



PhD, Full Professor

Department of Clinical and Toxicological Analysis - Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Brazil
Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

DR

Danyelle Romana Alves Rios

Associate Professor
Federal University of São Joao del-Rei
Divinópolis, Minas Gerais, Brazil



Maria das Graças Carvalho, PhD

PhD, Full Professor
Department of Clinical and Toxicological Analysis - Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Brazil
Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

LD

Luci Maria Sant'Ana Dusse

Full Professor
Department of Clinical and Toxicological Analysis - Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais
Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

PA

Patrícia Alpoim

PhD, Full Professor
Department of Clinical and Toxicological Analysis - Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Brazil
Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Background: Preeclampsia (PE), a serious disease of pregnancy, is associated with an increased risk of cardiovascular diseases (CVD) later in women's life. Hypertension, high body mass index (BMI), and a hypercoagulability state are common factors for PE and CVD.

Aims: The study aimed to evaluate lipid profile, D-dimer (Di-D) and plasminogen activator inhibitor (PAI-1) plasma levels, and thrombin generation in Brazilian women with a history of PE to assess the cardiovascular risk.

Methods: A total of 202 women who were pregnant between 2008 and 2016 were enrolled in the study: 101 developed PE, and 101 had normotensive pregnancy. Lipid profile was assessed by colorimetric enzymatic method, thrombin generation by Calibrated Automated Thrombogram (CAT) method, and Di-D and PAI-1 levels by immunoturbidimetry and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), respectively. The Shapiro-Wilk test was used to assess the normality of continuous variables. Continuous variables that presented symmetric distribution were described through mean. Comparison of mean values between groups was performed using Student's t-test. Variables with asymmetric distribution were described through median and interquartile ranges. Comparison of medians was performed through Mann-Whitney U test. The level of significance was set at $p < 0.05$. The statistical software used was IBM SPSS Statistics 26.

Results: Table 1 presents the results obtained for both groups of women.

Conclusion(s): PE and CVD share a predisposition to vascular and metabolic diseases. History of PE associated with endothelial changes, increased LDL levels and blood pressure, and changes in body composition may favor the emergence of CVD. The trend towards an increased risk of CVD in women with a history of PE shows the need to monitor them throughout life to reduce the impact of PE on CV risk.

Certificado de participação, como coautora, no trabalho apresentado na Semana do Conhecimento da UFMG

Semana do Conhecimento UFMG 2024

Diversidade: conhecer,
preservar e restaurar



Certificamos que o trabalho intitulado Avaliação da estabilidade bioquímica de soro armazenado em -20°C e -80°C por um período de 6 meses, foi apresentado na XXXIII Semana de Iniciação Científica, promovida pela Pró-Reitoria de Pesquisa, nos dias 21 a 25 de outubro de 2024.

De autoria de: THAYS SANTOS DA COSTA, THÁISE EMILIA MOREIRA DA SILVA, ISABELLA MACEDO COSTA

Orientador(a): PATRICIA NESSRALLA ALPOIM

Belo Horizonte, 25 de outubro de 2024

Fernando Marcos dos Reis
Pró-Reitor de Pesquisa



Código de autenticação: 8eb6c13d87ba59b39ba6d8f03f47dcbd5486011ab569800a31f022ceff8e98a6b5c89
Este documento dispensa carimbo e assinatura. Verifique sua autenticidade com o QRCode.
Realização:

Apoio:



Semana Nacional de
Ciência e Tecnologia



Certificado de participação, como coautora, em Tema Livre no 56º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial



56º Congresso Brasileiro
de Patologia Clínica
Medicina Laboratorial

Exposição Técnico-Científica

10 a 13 de setembro de 2024
Salvador - BA | Centro de Convenções Salvador

O PAPEL DA PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL NA SUSTENTABILIDADE DOS SISTEMAS DE SAÚDE

CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO

Realização



Sociedade Brasileira de Patologia Clínica Medicina Laboratorial

Nathália Greco Coelho

Participou na qualidade de autor responsável do tema livre
**Avaliação dos polimorfismos rs505151 e rs562556 da Pró
 proteína convertase subtilisina kexina do tipo 9 (PCSK9)
 relacionados aos níveis dos parâmetros do perfil lipídico
 em indivíduos dislipidêmicos.**

tendo como co-autores:

Luana Bernardes Xavier, Gabriela Lopes Martins, Tábata
 Tauani Araújo Chagas, Isabela Macedo Costa, Helton José
 Reis, Karina Braga Gomes Borges, Cláudia Natália Ferreira.


LEONARDO VASCONCELLOS
Diretor do Ensino da Sociedade Brasileira
de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
Bênico 2024-2025


ANDRÉ MARIO DDI
Diretor Científico da Sociedade Brasileira
de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
Bênico 2024-2025


FÁBIO SODRÉ
Presidente do 56º Congresso Brasileiro
de Patologia Clínica/Medicina
Laboratorial


ALVARO PULCINELLI JUNIOR
Presidente da Sociedade Brasileira de
Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
Bênico 2024-2025

Certificado de participação, como coautora, no trabalho apresentado no 6º Congresso Mineiro de Farmácia



CERTIFICADO

O CONSELHO REGIONAL DE FARMÁCIA DO ESTADO DE MINAS GERAIS
CERTIFICA QUE O TRABALHO INTITULADO

**NÍVEIS DE CITOCINAS E RISCO CARDIOVASCULAR EM MULHERES COM
HISTÓRICO DE PRÉ-ECLÂMPsia**

foi apresentado no **6º Congresso Mineiro de Farmácia**, realizado
nos dias 10 e 11 de outubro de 2024, em Uberlândia/MG.

Autor: FABIANA SORAIA SILVA SOARES BONFIM

Coautores: THAÍSE EMÍLIA MOREIRA DA SILVA, AMANDA NAVES DE CARVALHO RIBEIRO,
ISABELLA MACEDO COSTA, LETÍCIA GONÇALVES SILVA, PATRICIA NESSRALLA
ALPOIM, ANA PAULA LUCAS MOTA

Belo Horizonte, 12 de outubro de 2024



Márcia Alfenas
Presidente do CRF/MG e do
6º Congresso Mineiro de Farmácia



CRFMG | Conselho Regional de Farmácia
do Estado de Minas Gerais



**6º Congresso
Mineiro de
Farmácia**
Transforme a prática farmacêutica:
HUMANIZE, INOVE E CONECTE



Certificado de treinamento operacional do equipamento Audmax 240I