

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Faculdade de Medicina

Cristina Márcia Nogueira Salomão

**CORRELAÇÃO ENTRE A DILATAÇÃO FLUXO
MEDIADA (FMD) DA ARTÉRIA BRAQUIAL E OS
VALORES SÉRICOS MATERNOS DE PLGF E sFit-1
EM GESTANTES NORMAIS E COMPLICADAS POR
PRÉ-ECLAMPSIA**

Belo Horizonte

2011

Cristina Márcia Nogueira Salomão

**CORRELAÇÃO ENTRE A DILATAÇÃO FLUXO
MEDIADA (FMD) DA ARTÉRIA BRAQUIAL E OS
VALORES SÉRICOS MATERNOS DE PLGF E sFit-1
EM GESTANTES NORMAIS E COMPLICADAS POR
PRÉ-ECLAMPSIA**

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

Área de concentração: Perinatologia.

Orientador: Prof. Dr. Henrique Vitor Leite

Belo Horizonte
2011

S173c Salomão, Cristina Márcia Nogueira.
Correlação entre a dilatação fluxo mediada (FMD) da artéria braquial e os valores séricos maternos de PLGF e sFlt-1 em gestantes normais e complicadas por pré-eclâmpsia [manuscrito]. / Cristina Márcia Nogueira Salomão. -- Belo Horizonte: 2011.
106f.: il.
Orientador: Henrique Vitor Leite.
Área de concentração: Saúde da Mulher.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Pré-Eclâmpsia. 2. Endotélio/lesões. 3. Dilatação/métodos. 4. Marcadores Biológicos. 5. Gestantes. 6. Estudos Transversais. 7. Dissertações Acadêmicas. I. Leite, Henrique Vitor. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título.
NLN: WQ 215

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

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

FACULDADE DE MEDICINA

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

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

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

Colegiado

Prof. Antônio Carlos Vieira Cabral
Profa. Alamanda Kfoury Pereira
Prof. Agnaldo Silva Filho
Prof. Henrique Vitor Leite
Prof. Victor Hugo de Melo
Ines Katerina Damasceno Cavallo – Representante Discente

Ao meu querido marido,
que sempre me incentivou a lutar
por tudo que amo e acredito.

Aos meus filhos e enteadas,
pelo carinho e paciência
durante esta jornada.

Aos meus pais,
por tudo.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização deste estudo.

Em primeiro lugar, agradeço a toda equipe do Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG, que orientaram meu aprendizado e crescimento na área de pesquisa.

A todas as pacientes que concordaram em participar deste estudo, impulsionando o conhecimento nesta linha de pesquisa.

Aos professores das disciplinas cursadas durante o mestrado, pelos ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Vieira Cabral, pela sua dedicação ao Centro de Medicina Fetal da UFMG, pelo brilhantismo de suas ideias e pelo respeito por todos os seus alunos.

Ao Prof. Dr. Henrique Vitor Leite, pela orientação, dedicação e apoio não só durante a elaboração desta dissertação de mestrado, mas também durante a minha formação na graduação como médica e pelo amor que me despertou pela Obstetrícia.

À Dra. Ana Paula Brum Miranda Lopes, pela paciência, carinho e responsabilidade, pelos inúmeros conhecimentos transmitidos, pela dedicação ao serviço e às pacientes, pela sua presença e por seu apoio incondicional em todas as etapas deste trabalho.

Ao Dr. Augusto Henriques Fulgêncio Brandão, por sua grande amizade, por ter sido meu braço direito nas horas mais difíceis, pela ajuda na busca de artigos, pela realização dos exames, por tudo que me ensinou na área de pesquisa, pela postura profissional e, principalmente, por me fazer acreditar que “tudo vai dar certo”.

À Dra. Jaqueline Braga Pereira, pela amizade, dedicação e pela realização dos exames de ELISA.

À Prof. Flávia, pela competência e profissionalismo, pela ajuda indispensável na análise estatística do trabalho.

À Dra. Patrícia Gonçalves Teixeira, pelo carinho e apoio prestado desde o meu primeiro dia no CEMEFE, e pelos conhecimentos que adquiriu e transmitiu nesta linha de pesquisa.

Ao Dr. William Schneider da Cruz Krettli, pela amizade, pelo seu exemplo profissional, por ter me apresentado ao serviço de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG.

Às Dras. Ludmila, Alexandrina, Karoline Penoni, Vanessa, e tantos outros colegas, pela compreensão, pela amizade e palavras de incentivo.

A Deus, autor de todas as coisas.

Para realizar grandes conquistas, devemos não apenas agir, mas também sonhar; não apenas planejar, mas também acreditar.

Anatole France

RESUMO

Introdução: a pré-eclampsia (PE) é uma síndrome obstétrica relevante, que ocasiona alta morbidade materna e fetal, sendo considerada a principal causa de mortalidade perinatal, prematuridade e restrição de crescimento intrauterino, principalmente em países em desenvolvimento. A lesão endotelial é atualmente considerada ponto central e inquestionável na fisiopatologia desta doença, e vem sendo estudada no Centro de Medicina Fetal da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Diversos marcadores de lesão endotelial já foram estudados e correlacionados com a ocorrência da PE. Atualmente, a maioria dos estudos sobre predição de PE utiliza métodos biofísicos e bioquímicos. **Objetivos:** O presente estudo objetiva comparar os marcadores bioquímicos de lesão endotelial PLGF e sFlt-1 e o marcador biofísico Dilatação Fluxo Mediada (FMD) da artéria braquial nas gestações normais e nas gestações complicadas com pré-eclampsia, assim como verificar se existe uma correlação entre estes marcadores. **Pacientes e Métodos:** realizou-se estudo transversal no qual foram avaliadas 80 gestantes atendidas na Maternidade do Hospital das Clínicas da UFMG, sendo 52 delas com diagnóstico de pré-eclampsia (NHBPEPWG, 2000) e 28 normotensas. As pacientes foram submetidas a estudo ultrassonográfico para o cálculo da FMD da artéria braquial, conforme a técnica descrita por Anderson e Mark (1989), modificada. Seguiu-se a coleta de amostras sanguíneas para determinação dos níveis plasmáticos do PLGF e sFlt-1 (método de ELISA). A idade gestacional do grupo variou entre 20 e 41 semanas de gestação. **Resultados:** observou-se redução significativa da FMD ($p < 0,000$) e aumento significativo da concentração de sFlt-1 ($p < 0,001$) e da razão sFlt-1/PLGF ($p < 0,041$) nas pacientes com pré-eclampsia em relação ao grupo de pacientes normotensas; entretanto, não houve diferença entre a concentração de PLGF nos dois grupos ($p < 0,274$). Não foi encontrada correlação entre nenhum dos marcadores estudados. **Conclusão:** embora os marcadores biofísico FMD da artéria braquial e bioquímico sFlt-1 não se correlacionem entre si, possuem comportamento estatisticamente distinto entre o grupo de gestantes normotensas e com pré-eclampsia.

Palavras-chave: Pré-eclampsia. Lesão endotelial. Dilatação Fluxo-Mediada. PLGF. sFlt-1.

ABSTRACT

Introduction: preeclampsia (PE) is a relevant obstetric disease, which causes high maternal and fetal morbidity, and has been considered the main cause of perinatal mortality, prematurity and intra uterine growth restriction, especially in developing countries. The endothelial lesion is currently considered the central point and unquestionable in the pathophysiology of this disease, and is being studied in the fetal medicine center of the Federal University of Minas Gerais (UFMG). Several markers of endothelial damage have been found and correlated with the occurrence of preeclampsia. Currently, most studies on the prediction of preeclampsia are using biochemical and biophysical methods. **Objectives:** This study aims to compare the biochemical markers of endothelial lesion PLGF and sFlt-1 and the biophysical marker FMD (flow mediated dilatation) of brachial artery in normal pregnancies and in pregnancies complicated with preeclampsia as well as whether there is a correlation between these markers. **Patients and Methods:** this is a cross-sectional study that evaluated 80 pregnant women at the maternity of the University Hospital from Minas Gerais, 52 of them with diagnosis of preeclampsia (NHBPEPWG, 2000) and 28 normotensive. The patients underwent ultrasound studies for the calculation of the flow mediated dilatation according to the technique described by Anderson and Mark (1989), as adapted. This was followed by collection of blood samples to determine the plasmatic of PLGF and sFlt-1 (ELISA assay). The gestational age of the group ranged between 20 and 41 weeks of gestation. **Results:** there was a significant reduction of FMD ($p < 0,000$) and significant increase of the concentration of sFlt-1 ($p < 0,001$) and the sFlt-1/PLGF index ($p < 0,041$) in patients with preeclampsia compared to normotensive group; however, there was no difference between the concentration of PLGF in both groups ($p > 0,274$). No correlation was found between any of the markers studied.

Conclusion: although the biophysical marker FMD and the biochemical marker sFlt-1 not correlate with each other, they have statistically different behavior between the patients with preeclampsia and normotensive pregnant women.

Keywords: Preeclampsia. Endothelial injury. Flow Mediated Dilatation. PLGF.

sFlt-1

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Invasão Trofoblástica Normal	27
FIGURA 2 – Placentação Normal e Anômala.....	29
FIGURA 3 – Diagrama de Desenvolvimento da Pré-Eclampsia.....	35
GRÁFICO 1 – Classificação das pacientes do grupo de PE em precoce/tardia e leve/grave	58
GRÁFICO 2 – Frequência dos sintomas apresentados pelos 25% de pacientes sintomáticas no grupo da PE	60
GRÁFICO 3 – Representação em Box-Plot do comportamento da dilatação Fluxo Mediada da Artéria Braquial nos dois Grupos de Estudo	73
GRÁFICO 4 – Representação em Box-Plot do comportamento da Concentração Sérica do sFlt-1 nos dois Grupos de Estudo	74
GRÁFICO 5 – Representação em Box-Plot do comportamento da Concentração Sérica do PLGF nos dois Grupos De Estudo	76
GRÁFICO 6 – Representação em Box-Plot do comportamento da razão sFlt- 1/PLGF nos dois Grupos de Estudo	77
GRÁFICO 7 – Correlação de Spearman entre o sFlt-1 e o PLGF.....	78
GRÁFICO 8 – Correlação de Spearman entre o sFlt-1 e a FMD da Artéria Braquial	79
GRÁFICO 9 – Correlação de Spearman entre o PLGF e a FMD da Artéria Braquial	79
GRÁFICO 10 – Correlação de Spearman entre a FMD da Artéria Braquial e a razão sFlt-1/PLGF	80

LISTA DE QUADRO E TABELAS

QUADRO 1 – Critérios diagnósticos da pré eclampsia forma grave.....	23
TABELA 1 – Distribuição das pacientes nos dois grupos no momento de inclusão no estudo.....	54
TABELA 2 – Caracterização das pacientes quanto à idade materna (em anos).....	56
TABELA 3 – Caracterização das pacientes quanto à idade gestacional.....	56
TABELA 4 – Caracterização das pacientes quanto à história obstétrica.....	57
TABELA 5 – Presença de sinais e sintomas nas pacientes do grupo com PE no momento de inclusão no estudo.....	59
TABELA 6 – Comparação das pacientes dos dois grupos quanto à idade materna (anos).....	61
TABELA 7 – Comparação das pacientes dos dois grupos quanto à idade gestacional.....	61
TABELA 8 – Comparação das pacientes dos dois grupos quanto à história obstétrica.....	62
TABELA 9 – Comparação das pressões arteriais sistólica, diastólica e média entre os dois grupos durante o pré-natal e no momento de inclusão no estudo.....	63
TABELA 10 – Comparação das pacientes dos dois grupos quanto à história de PE e prematuridade em gestações anteriores.....	64
TABELA 11 – Comparação das pacientes dos dois grupos quanto à história familiar de PE e HAC.....	65
TABELA 12 – Comportamento da dilatação fluxo mediada (FMD) da artéria braquial nos dois grupos de estudo.....	72
TABELA 13 – Comportamento da concentração sérica do sFlt-1 nos dois grupos de estudo.....	74
TABELA 14 – Comportamento da concentração sérica do PLGF nos dois grupos de estudo.....	75
TABELA 15 – Comportamento da razão sFlt-1/PLGF nos dois grupos de estudo.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Antes de Cristo
ANG	Angiotensina
ANP	Peptídeo atrial natriurético
AVC	Acidente vascular cerebral
Bb	Bilirrubina
BSA	Albumina sérica bovina
CEMEFE	Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG
CIUR	Crescimento intrauterino restrito
COEP	Comissão de Ensino e Pesquisa
dC	Depois de Cristo
DMG	<i>Diabetes mellitus</i> gestacional
DNA	Ácido desoxirribonucléico
E	Eclampsia
ELISA	<i>Enzyme-linked immunoabsorbent assay</i>
eNOS	Enzima NO <i> sintetase</i>
EUA	Estados Unidos da América
FMD	Dilatação fluxo mediada
HAC	Hipertensão Arterial Crônica
HC	Hospital das Clínicas
HELLP	<i>Haemolysis, elevated liver enzymes, low platelet counts</i>
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corpórea
IP	Índice de Pulsatilidade
LDH	Lactato desidrogenase
NHBPEPWG	National High Blood Pressure Education Program Working Group

NK cells	Células <i>natural killer</i>
NKB	Neurocinina B
NO	Óxido nítrico
PA	Pressão arterial
PAM	Pressão arterial média
PAPP-A	Proteína A plasmática associada à gestação
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
PE	Pré-eclampsia
PLGF	Fator de crescimento placentário
RNA	Ácido ribonucléico
RNAm	RNA mensageiro
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
sEng	<i>Endoglin</i> solúvel
sFlt-1	<i>Soluble fms-like tyrosine kinase 1</i> (receptor livre do VEGF)
SNC	Sistema Nervoso Central
SRA	Sistema renina-angiotensina
TNF	Fator de necrose tumoral
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UNIRIO	Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
US	Ultrassom
VEGF	Fator de Crescimento Vascular Endotelial

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	15
2 - REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 – Introdução	17
2.2 – Conceito.....	19
2.3 – Incidência	20
2.4 – Classificação	22
2.5 – Etiologia e Fatores de Risco.....	24
2.6 – Etiopatologia	26
2.7 – Fisiopatologia	30
2.8 - Predição	35
2.8.1 – Métodos biofísicos	37
2.8.1.1 – Doppler das artérias uterinas.....	37
2.8.1.2 – Doppler das artérias oftálmicas	38
2.8.1.3 – Dilatação fluxo mediada (FMD) da artéria braquial.....	38
2.8.2 – Métodos bioquímicos.....	43
2.8.2.1 - PAPP-A.....	45
2.8.2.2 – NKB	45
2.8.2.3 - Homocisteína	46
2.8.2.4 – Inibina A e ativina A.....	46
2.8.2.5 – Endoglin	46
2.8.2.6 – PLGF e VEGF	47
2.8.2.7 – sFlt-1	48
2.9 – Desafios futuros	51
3 – OBJETIVOS	53
3.1 – Objetivo Principal	53
3.2 – Objetivo Secundário	53

4 – PACIENTES E MÉTODOS.....	54
4.1 – Pacientes	54
4.1.1 – Critérios de inclusão	55
4.1.2 – Critérios de exclusão	55
4.1.3 – Características gerais do grupo de estudo	55
4.1.4 Características das pacientes do grupo com PE	57
4.1.5 – Comparação das características gerais das pacientes dos dois grupos de estudo	60
4.2 – Metodologia	65
4.2.1 – Medida da pressão arterial e proteinúria	65
4.2.2 – Medida da Dilatação Fluxo Mediada da Artéria Braquial	66
4.2.3 – Coleta de Sangue.....	67
4.2.4 – Dosagem dos Fatores de Angiogênese PLGF e sFlt-1.....	67
4.2.4.1 – Sensibilização da placa de ELISA (1º Dia)	68
4.2.4.2 – Bloqueio/Adição de amostras, padrões e branco (2º Dia).....	68
4.2.4.3 – Detecção e Revelação (3º Dia)	69
4.2.5 – Análise Estatística.....	71
5 – RESULTADOS.....	72
5-1 – Comportamento da Dilatação Fluxo Mediada (FMD) da Artéria Braquial nos Dois Grupos ...	72
5.2 – Comportamento do sFlt-1 nos dois Grupos Estudados.....	73
5.3 - Comportamento do PLGF nos dois Grupos Estudados	75
5.4 – Comportamento da razão sFlt-1/PLGF nos dois grupos estudados	76
5.5 – Análise da Correlação entre os Marcadores de Angiogênese Estudados	77
6 – DISCUSSÃO	81
7 – CONCLUSÃO	89
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	100
ANEXO A – Parecer COEP-UFMG.....	102

1 – INTRODUÇÃO

A pré-eclampsia (PE) representa um grave problema obstétrico, principalmente em países em desenvolvimento, onde os índices de mortalidade materna são alarmantes. No Brasil, entre as causas diretas de mortalidade materna, a pré eclampsia/eclampsia representou a primeira causa de mortalidade materna em 2007 (BRASIL, 2007).

Constitui-se em uma doença multissistêmica e multifatorial, conhecida pela humanidade há vários séculos. A existência de convulsões em uma mulher grávida foi referida em escritos antigos do Egito e China milhares de anos antes de Cristo. Hipócrates, no século IV aC, faz referência à gravidade das crises durante a gestação. Celsus, no século I dC, observou a associação entre convulsões e morte fetal. Mauriceau François (1673-1709) foi o primeiro a diferenciar a eclampsia de crises epiléticas, considerando-a condição própria da gravidez (MALVINO, 2008).

Muito se tem investido em estudos sobre a doença nos últimos séculos, e muitos avanços foram obtidos no conhecimento desta patologia. No entanto, apesar do crescimento no conhecimento da fisiopatologia da PE, sua etiologia permanece obscura. Até hoje a pré-eclampsia continua sendo a “doença das teorias”. A doença é heterogênea e a patogênese pode diferir entre mulheres com fatores de risco variados. Muitos fatores etiológicos (genéticos, nutricionais, imunológicos e infecciosos) e vias fisiopatológicas (placentação anormal, stress oxidativo e disfunção endotelial) têm sido propostos como hipóteses causais da pré-eclampsia. (MEADS *et al.*, 2008; SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; ROBERTS; CATOV, 2008)

As pesquisas sobre pré-eclampsia têm sido extensivas durante a última década, mas nenhum resultado acrescentou muito no que diz respeito à predição ou à prevenção da doença. O principal impedimento no desenvolvimento de tais métodos é exatamente a pequena compreensão a respeito dos vários mecanismos patológicos que levam ao quadro de pré-eclampsia. (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005).

Uma das linhas de pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher da Faculdade de Medicina da UFMG enfoca exatamente os aspectos hemodinâmicos, genéticos e bioquímicos da pré-eclampsia. Vários estudos de relevância têm sido desenvolvidos no Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas (CEMEF-HC/UFMG) no intuito de desvendar os vários mistérios que ainda circundam essa doença.

Após alguns anos afastada da Faculdade de Medicina da UFMG, onde me formei, senti reavivada a vontade de exercer a atividade docente. Logo de início me interessei por essa linha de pesquisa, que trata dessa antiga e intrigante doença conhecida como pré-eclampsia.

Este estudo aborda três marcadores de lesão endotelial, atualmente considerada foco principal na fisiopatologia da PE. Dois deles, marcadores bioquímicos, hoje disponíveis apenas ao nível de pesquisa: o PLGF e o sFlt-1. Um destes, marcador biofísico de lesão endotelial, a dilatação fluxo mediada da artéria braquial, exame não invasivo de relativo baixo custo.

A dosagem de marcadores de lesão endotelial, por meio do ensaio de ELISA, foi realizada pela primeira vez no laboratório do CEMEF-HC-UFMG, em função deste estudo. O pioneirismo das dosagens no nosso laboratório abriu caminho à realização de outros estudos com marcadores de lesão endotelial no serviço. Estão em andamento mais uma dissertação de mestrado e duas novas teses de doutorado, envolvendo esses marcadores, além de um estudo longitudinal sobre o assunto.

Muitos desafios permanecem no que diz respeito à predição, prevenção e condução da PE. Estudos futuros deverão expandir nossos conhecimentos sobre esses e outros biomarcadores, capazes de predizer precocemente o aparecimento de PE, principalmente a forma grave, com o objetivo maior de reduzir a prevalência dessa doença, que é associada ao prognóstico gestacional adverso.

2 - REVISÃO DA LITERATURA

2.1 – Introdução

A pré-eclampsia (PE) é uma enfermidade multissistêmica, de causa desconhecida, específica da espécie humana. É um problema obstétrico relevante, que ocasiona alta morbidade e mortalidade materna e fetal, principalmente em países em desenvolvimento. Tem sido considerada a principal causa de mortalidade perinatal, prematuridade e restrição de crescimento intra-uterino (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; CABRAL *et al.*, 2009).

Mais de meio milhão de mulheres morrem a cada ano por causas relacionadas à gestação, e 99% destas mortes ocorrem nos países em desenvolvimento. Estima-se que 10-25% das mortes maternas nos países em desenvolvimento estejam associadas com PE e eclampsia. No Reino Unido e nos Estados Unidos da América (EUA), 15% das mortes diretamente relacionadas à gestação estão associadas à PE (MEADS *et al.*, 2008).

Os índices de mortalidade materna nos países em desenvolvimento são alarmantes. Em 2003, a razão de mortalidade materna no Brasil, obtida a partir de óbitos declarados, foi de 51,7 óbitos maternos por 100.000 nascidos vivos. Além disso, a razão de mortalidade materna corrigida foi de 72,4 por 100.000 nascidos vivos, correspondendo a 1.572 óbitos maternos. Entre as causas diretas, a doença hipertensiva específica da gestação (E/PE) representou a primeira causa de óbito entre todas as categorias de raça/cor consideradas (BRASIL, 2007).

Existem menos informações relacionadas à morbidade para o binômio mãe/bebê, mas, aparentemente, esta se apresenta muito alta. Por exemplo, a PE é responsável por 1/5 das internações antenatais, 2/3 dos encaminhamentos para unidades de hospital-dia, e 1/4 das admissões em unidades de terapia intensiva. A morbidade psicológica que se segue a uma gestação difícil ou morte perinatal é bem documentada, embora existam poucas informações para a PE especificamente (MEADS *et al.*, 2008; CLEMENT, 1998).

A prevenção da PE revolucionaria o acompanhamento pré-natal e salvaria muitas vidas de mães e fetos, principalmente em países subdesenvolvidos, nos quais suas consequências são devastadoras. Entretanto, é difícil desenvolver estratégias racionais para a prevenção, uma vez que sua causa não é totalmente conhecida. As estratégias de prevenção da PE se mostram desapontadoras, provavelmente, devido ao fato das intervenções propostas serem focadas no início do aparecimento dos sintomas, enquanto os fenômenos de comprometimento vascular já se instalaram bem antes. A prevenção primária, ou seja, aquela que protege contra a doença, só se concretizará com a descoberta definitiva de sua etiologia. Enquanto não for atingido esse estágio, é necessário procurar exaustivamente recursos terapêuticos que atuem em fases precoces da fisiopatologia da doença, promovendo a profilaxia secundária, prevenindo o desenvolvimento de formas graves da doença. Novas pesquisas devem se concentrar na descoberta de fármacos capazes de proteger e recuperar o endotélio lesado (KAUFMANN; BLACK; HUPPERTZ, 2003; MEADS *et al.*, 2008; CABRAL *et al.*, 2009).

Durante a última década, vários estudos randomizados relataram o uso de vários métodos para reduzir os índices e a gravidade da PE. Resumidamente, existem alguns ensaios sobre restrição de proteínas e sal; suplementação de cálcio, magnésio, zinco, vitaminas C, E e óleo de peixe; uso de diuréticos e outras drogas anti-hipertensivas; além de heparina na prevenção de PE em mulheres com fatores de risco. Os resultados desses estudos não mostraram benefícios. Entretanto, algumas pesquisas observacionais sugerem que a heparina reduz a recorrência da PE em mulheres com trombofilias. (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; FAYYAD; HARRINGTON, 2005; SIBAI, 1998; KUPFERMINC *et al.*, 2001; DEKKER; SIBAI, 2001; KNIGHT *et al.*, 2007).

Na revisão feita pela *Cochrane*, em 2007, sobre a segurança e eficácia do uso de drogas antiplaquetárias (principalmente a aspirina) na prevenção da PE incluiu 51 estudos (n=36500). Os revisores concluíram que as drogas antiplaquetárias, principalmente baixas doses de aspirina, apesar de seguras, possuem benefícios pequenos a moderados quando usadas na prevenção de PE. Contudo, necessita-se de mais informações para avaliar quais mulheres seriam mais beneficiadas, qual a melhor época da gestação para se iniciar o tratamento e qual a dose a ser utilizada

(SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; KNIGHT *et al.*, 2007; FAYYAD; HARRINGTON, 2005).

Tendo em vista os estudos realizados sobre a PE, verifica-se que o melhor tratamento ainda é assistência pré-natal adequada, diagnóstico precoce, controle apropriado e parto em tempo hábil, evitando as complicações mais graves (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; SIBAI, 2003; BROWN, M. *et al.*, 2000; NHBPEPWG, 2000).

2.2 – Conceito

Os critérios diagnósticos da pré-eclampsia e seus subtipos não eram bem definidos, variando entre os países e ao longo do tempo, durante os últimos 20 anos. Em 2000, os critérios foram refinados, desenvolvendo-se certo consenso entre as definições recomendadas pelos grupos de estudo internacionais sobre pré-eclampsia (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005).

As definições utilizadas seguem a classificação das doenças hipertensivas na gestação, como recomendado pela descrição do *National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy* (NHBPEPWG, 2000).

Existem 4 categorias principais de doenças hipertensivas na gestação:

1. **Pré-eclampsia:** A pré-eclampsia é definida como hipertensão e proteinúria detectadas pela primeira vez na segunda metade da gestação (após 20 semanas de gestação). A proteinúria e a pressão arterial devem voltar ao normal até 12 semanas após o parto.
2. **Hipertensão gestacional:** Definida como hipertensão detectada pela primeira vez na segunda metade da gestação (após 20 semanas de gestação) na ausência de proteinúria. Geralmente, há melhora até três meses após o parto. A hipertensão gestacional que não se reverte neste período deve ser reclassificada como hipertensão arterial crônica.

3. **Hipertensão arterial crônica:** Apresenta-se anterior ao período da gestação ou é detectada antes de 20 semanas de gestação.
4. **Pré-eclampsia superposta à hipertensão crônica:** Mulheres com hipertensão crônica podem desenvolver pré-eclampsia que é diagnosticada quando ocorre piora da hipertensão ou da proteinúria, ou aparecimento de sinais e sintomas da pré-eclampsia após 20 semanas de gestação (NHBPEPWG, 2000; MEADS *et al.*, 2008).

A proteinúria durante a gestação é definida como excreção de 300mg ou mais de proteína em amostra de urina colhida por 24 horas. Quando a proteinúria de 24 horas não está disponível, definimos proteinúria como $\geq +1$ na proteinúria de fita (dipstick), em pelo menos duas amostras colhidas com intervalos de pelo menos 4 a 6 horas (MEADS *et al.*, 2008; NHBPEPWG, 2000).

Na ausência de proteinúria, a pré-eclampsia deve ser considerada quando a hipertensão é associada com sintomas cerebrais persistentes, dor epigástrica ou dor no quadrante superior do abdome acompanhada de náuseas e vômitos, plaquetopenia e alterações de enzimas hepáticas (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005).

A eclampsia é definida como o princípio de convulsões em mulheres com hipertensão gestacional ou pré-eclampsia (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005).

2.3 – Incidência

Apesar dos avanços alcançados no cuidado pré-natal, a frequência da pré-eclampsia não mudou, variando entre 2% a 7% em mulheres nulíparas saudáveis. Nessas mulheres, a doença geralmente é leve e as manifestações clínicas aparecem próximas ao termo. Em contraste, a frequência e gravidade da doença são consideravelmente maiores em mulheres com gestação múltipla, hipertensas crônicas, mulheres com história pregressa de pré-eclampsia, diabetes pré-gestacional e trombofilias pré-existentes. Cerca de 15-25% das mulheres com

hipertensão gestacional evoluem para PE (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; MEADS *et al.*, 2008).

2.4 – Classificação

A pré-eclampsia é classificada como leve ou grave, uma vez que diversos autores desacreditam na existência de pré-eclâmpsia na forma moderada. A pré-eclampsia leve se refere à doença que preenche critérios para o diagnóstico de pré-eclampsia, mas não apresenta sinais de comprometimento materno ou fetal. O diagnóstico de pré-eclampsia grave requer a evidência de pelo menos um critério de gravidade. A diferenciação entre pré-eclampsia leve e grave é importante, pois essa definição norteará a conduta a ser tomada (NORWITZ; FUNAI, 2008).

A pré-eclampsia é considerada grave quando a PA é $\geq 160 \times 110$ em duas ocasiões com intervalos de 4 horas entre as medidas, ou a proteinúria é maior que 5g/24hs em uma única dosagem, ou maior que 2g/24hs em duas dosagens diferentes. A PE também é considerada grave quando ocorre envolvimento de múltiplos órgãos, como edema pulmonar, hiperreflexia, convulsões, oligúria ($< 500\text{ml}/24\text{hs}$), plaquetopenia ($< 100000/\mu\text{L}$), aumento dos níveis de creatinina, alterações de enzimas hepáticas com dor epigástrica persistente, dor no quadrante superior do abdome e sintomas graves do SNC (alteração de estado mental, cefaléia, borramento visual ou cegueira). O desenvolvimento de oligohidrânio e CIUR também aponta o desenvolvimento de PE grave (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; PURWOSUNU *et al.*, 2008; ACOG, 2002; MEADS *et al.*, 2008).

A PE grave pode causar problemas no fígado, cérebro e rins. Complicações raras, mas, particularmente sérias, são a eclampsia, a síndrome HELLP (hemólise, aumento de enzimas hepáticas e plaquetopenia) e a coagulação intravascular disseminada. Essas complicações graves estão associadas com aumento do risco de morte materna. Como a placenta também está envolvida na PE, ocorre aumento do risco também para o feto. O risco mais comum é o crescimento inadequado pelo suprimento sanguíneo insuficiente através da placenta lesada, além de problemas como prematuridade (MEADS *et al.*, 2008).

QUADRO 1 – Critérios diagnósticos da pré eclampsia forma grave

CRITÉRIOS	DEFINIÇÃO
Sintomas	
Sintomas de alteração do SNC	Escotomas, borramento visual, alteração do estado mental e/ou cefaléia intensa
Sintomas de distensão ou ruptura da cápsula hepática	Dor em região epigástrica e em hipocôndrio direito hepática
Sinais	
Critério por PA	PA sistólica \geq 160 mmHg e/ou PA diastólica \geq 110 mmHg em 2 medidas com intervalo de pelo menos 6 horas entre elas
Eclampsia	Convulsões generalizadas e/ou coma no curso da PE sem outras causas neurológicas
Edema pulmonar ou cianose	Acúmulo excessivo de líquido nos pulmões
AVC	Perda aguda de função cerebral (alteração do estado mental, coma, sinais neurológicos focais)
Cegueira cortical	Perda total ou parcial da visão por dano na região visual do córtex occipital
CIUR	Peso fetal estimado $<$ percentil 5 para a idade gestacional ou $<$ percentil 10 para a idade gestacional com evidências de comprometimento fetal (oligohidrâmnio, alteração do Doppler de artéria umbilical)
Achados Laboratoriais	
Proteinúria	$>$ 5g/24hs ou 3+ em 2 amostras de urina colhidas com pelo menos 4hs de intervalo
Oligúria ou falência renal	Volume urinário $<$ 500mL/24hs e/ou creatinina sérica $>$ 1,2mg/dL
Síndrome HELLP	Evidência de hemólise (Bb $>$ 1,2mg/dL, LDH $>$ 600U/L), aumento de enzimas hepáticas e plaquetopenia
Lesão hepatocelular	Níveis séricos de transaminases \geq 2x o normal
Trombocitopenia	$<$ 100000 plaquetas/mm ³
Coagulopatia	TP aumentado, contagem de plaquetas $<$ 100000/mm ³ , e fibrinogênio baixo ($<$ 300mg/dl)

Fonte: NORWITZ; FUNAI, 2008, p. 210.

Além da divisão clássica da doença entre leve e grave, os estudos mais recentes sugerem uma nova classificação baseada na época do início das manifestações clínicas. Esses estudos propõem a classificação da doença em precoce, para pacientes que apresentam início da sintomatologia antes de 34 semanas de gestação; e tardia, para as pacientes cujos sintomas iniciam-se após 34 semanas de gestação. Os pesquisadores que conduziram essas pesquisas acreditam que essas duas formas de apresentação possuem etapas fisiopatológicas tão diversas levando a propor que, porventura, se constituam em entidades distintas (BRANDÃO *et al.*, 2010; HUPPERTZ, 2008; VON DADELSZEN; MAGGE; ROBERTS, 2003).

A PE precoce (abaixo de 34 semanas) associa-se principalmente à remodelação placentária incorreta, com evidências de lesões isquêmicas placentárias. Desse modo, pacientes com PE precoce apresentam Doppler de artérias uterinas alterado, sendo frequente a associação com crescimento intra-uterino restrito (CIUR) e resultados materno-fetais adversos. Pacientes com idade acima de 35 anos têm maior risco de desenvolvimento de PE precoce. Além disso, a PE precoce e grave tem maior índice de recorrência (BRANDÃO *et al.*, 2010; NESS; HUBEL, 2005).

A PE tardia (acima de 34 semanas), por sua vez, está mais associada a fatores constitucionais maternos, como índice de massa corporal (IMC) aumentado. O índice de resistência das artérias uterinas nessas pacientes geralmente é normal ou pouco aumentado. O envolvimento fetal é menor e o resultado perinatal é mais favorável (BRANDÃO *et al.*, 2010).

2.5 – Etiologia e Fatores de Risco

A PE ainda é a “doença das teorias”. Muitos fatores etiológicos (genéticos, nutricionais, imunológicos e infecciosos) e vias fisiopatológicas (placentação anormal, estresse oxidativo e disfunção endotelial) são propostos como hipóteses causais da pré-eclampsia (MEADS *et al.*, 2008).

Acredita-se que a placenta exerce um papel chave no desenvolvimento da PE, uma vez que sua ocorrência se dá somente na presença da placenta e sua resolução começa com a remoção do tecido placentário no parto. A PE pode ocorrer na ausência do feto, como na doença molar e, quando a gestação é ectópica, como na gestação abdominal (MEADS *et al.*, 2008; PIERING *et al.*, 1993; KHONG *et al.*, 1986).

A PE tende a ser recorrente em famílias, sugerindo a predisposição genética como um fator de risco. O risco é maior para irmãs e filhas de mulheres que desenvolveram PE e eclampsia. Atualmente, alguns genes são investigados como relacionados ao desenvolvimento de PE. Evidências recentes sugerem a presença de um locus de susceptibilidade materna presente no cromossomo 2 e um no braço longo do cromossomo 4. No entanto, parece que a PE tem um modelo de herança complexo, envolvendo múltiplos *loci* de susceptibilidade à doença, interação genética comportamental, e interações paternas (feto) que complicam o entendimento do modelo de herança desta condição (ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010; FAYYAD; HARRINGTON, 2005; ALEXANDER, 2007; MEADS *et al.*, 2008; SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; REDMAN; SARGENT, 2005).

Fatores de risco altamente associados a PE incluem diabetes materna, hipertensão arterial crônica e doença renal. Trombofilias e doenças autoimunes possuem forte associação com PE grave e precoce. Fatores obstétricos associados ao risco aumentado incluem as gestações gemelares, história de PE em gestação anterior, especialmente se foi grave e precoce, e as gestações molares. Outros fatores associados ao pequeno aumento do risco de PE são a primiparidade, idade materna menor que 20 anos ou acima de 35 anos, história familiar de PE e obesidade. A obesidade possui forte relação com resistência aumentada à insulina que é um fator de risco para a PE (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; REDMAN; SARGENT, 2005; NESS; HUBEL, 2005; MEADS *et al.*, 2008).

2.6 – Etiopatologia

Anos atrás se difundiu o conceito, introduzido pelo *Oxford Group*, de que a PE seria uma doença que se desenvolve em dois estágios. O primeiro estágio seria a redução da perfusão placentária e o segundo estágio seria a resposta materna a esta redução da perfusão. Nesse modelo, a redução da perfusão placentária poderia resultar em crescimento intra-uterino restrito (CIUR) ou parto prematuro (ou ambos), mas a síndrome materna da PE somente ocorreria nas mulheres com fatores constitucionais (genéticos, comportamentais, ambientais, etc.) que tornariam a mulher susceptível aos efeitos da redução de perfusão placentária (ROBERTS; CATOV, 2008; NESS; HUBEL, 2005; ALEXANDER, 2007; MEADS *et al.*, 2008).

Na gestação normal, com a implantação placentária, começam a ocorrer mudanças nos vasos sanguíneos para assegurar um desenvolvimento fetal adequado. Quando a placenta normal se implanta, ela invade as artérias espiraladas uterinas, substituindo e remodelando o endotélio em vasos de maior calibre, com maior capacidade para conduzir o fluxo sanguíneo para a placenta (MEADS *et al.*, 2008; KHONG *et al.*, 1986; BROSENS; ROBERTSON; DIXON, 1972).

Ramsey e Donner (1980) descreveram que o desenvolvimento desses vasos útero-placentários ocorria em duas ondas. A primeira onda acontece antes de 12 semanas de gestação e consiste na invasão e modificação das artérias espiraladas entre a decídua e o miométrio. A segunda onda ocorre entre 12 e 16 semanas de gestação e envolve a invasão de segmentos intramiométriais das artérias espiraladas. O remodelamento causado por essas duas fases de invasão transformam os vasos uteroplacentários, originalmente com lumens estreitos, em vasos dilatados com alto fluxo e baixa resistência vascular, garantindo a perfusão da placenta com nutrientes e sangue oxigenado (REDMAN; SARGENT, 2005; ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010; CUNNINGHAM *et al.*, 2010; RAMSEY; DONNER, 1980).

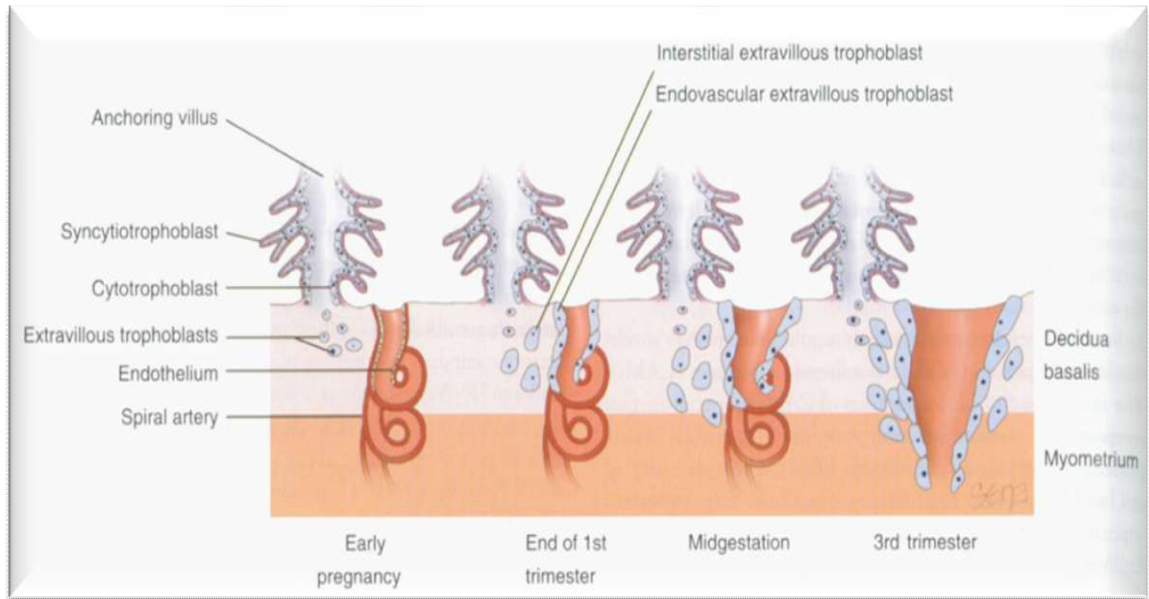


FIGURA 1 – Invasão Trofoblástica Normal
 Fonte: CUNNINGHAM *et al.*, 2010, p. 50.

Embora os primeiros trabalhos enfatizassem o trofoblasto endovascular, o trofoblasto intersticial tem sido investigado recentemente. Atualmente, essas células intersticiais são reconhecidas como a principal porção do leito placentário penetrando a decídua e o miométrio. Elas agregam as artérias espirais, e sua função pode incluir a preparação dos vasos para a invasão do trofoblasto endovascular (BENIRSCHKE; KAUFMANN, 2000; PIJNENBORG *et al.*, 1983; CUNNINGHAM *et al.*, 2010).

O trofoblasto endovascular penetra o lúmen das artérias espiraladas e destrói o endotélio vascular através de um mecanismo de apoptose, invadindo a camada vascular média, modificando-a. Assim, o material fibrinóide substitui a musculatura lisa e o tecido conectivo da camada média dos vasos. Futuramente, as artérias espiraladas regeneram seu endotélio. Hamilton e Boyd (1966) relataram que em 1870, Friedlander descreveu pela primeira vez mudanças nas artérias espiraladas. A invasão do trofoblasto endovascular pode estender vários centímetros ao longo do lúmen vascular. A invasão dos trofoblastos envolve apenas as artérias espiraladas decíduais, não atingindo as veias decíduais (CUNNINGHAM *et al.*, 2010; HAMILTON; BOYD, 1966).

Na PE, essas adaptações vasculares podem ser falhas ao se estenderem profundamente no útero, resultando em vasos com menor diâmetro e alta resistência, incapazes em atender o aumento da demanda por suprimento sanguíneo para a placenta (MEADS *et al.*, 2008; KHONG *et al.*, 1986; BROSENS; ROBERTSON; DIXON, 1972).

O que parece ocorrer é uma invasão trofoblástica incompleta, com os vasos deciduais tornando-se revestidos por trofoblasto endovascular, mas os vasos miometriais não. As arteríolas miometriais mais profundas não perdem o seu revestimento endotelial e o seu tecido músculo-elástico, sendo seu diâmetro externo médio apenas a metade do diâmetro externo dos vasos de uma placenta normal (REDMAN; SARGENT, 2005; FISHER; McMASTER; ROBERTS, 2009; MADAZLI *et al.*, 2000).

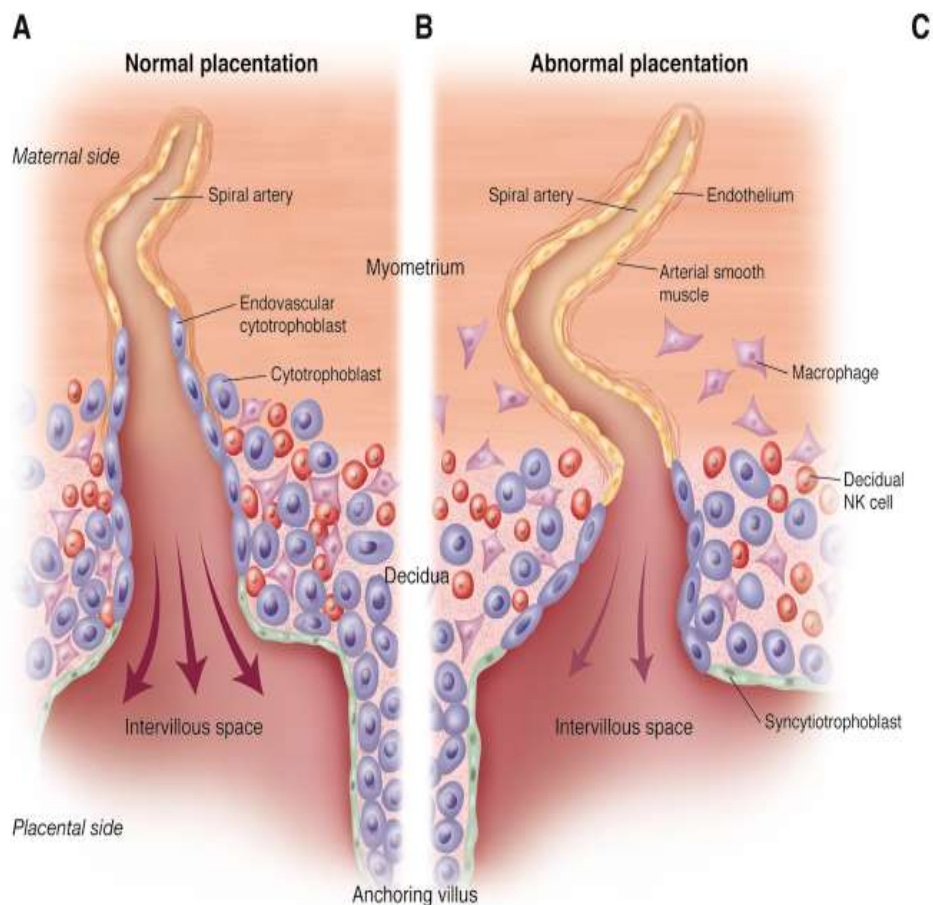


FIGURA 2 – Placentação Normal e Anômala

Fonte: REDMAN; SARGENT, 2005, p. 1593.

Nota: Placentação Deficiente e pré-eclampsia. Placentação Normal (A) e placentação inadequada (B) com 15/16 semanas de gestação. A placenta está ligada à decidua materna por vilosidades de ancoragem. Durante a placentação normal, os citotrofoblastos (azul) invadem a decídua materna e as artérias espiraladas adjacentes. Eles penetram as paredes das artérias e substituem parte do endotélio materno (amarelo), estimulando a remodelação das paredes dos vasos de tal forma que a musculatura lisa é perdida, e o vaso dilata. Na decídua, eles são confrontados com muitas células NK (vermelho), e alguns macrófagos (roxo). Durante a gestação normal, estas células do sistema imune facilitam a invasão profunda dos citotrofoblastos nos segmentos miometriais (A) e promovem remodelação extensa das artérias espiraladas. No estágio pré-clínico da PE, a invasão é restrita (B) com prejuízo do remodelamento arterial.

A falha na invasão trofoblástica pode ocasionar alteração da atividade secretória do trofoblasto. O lúmen anormalmente estreito das artérias espiraladas prejudica o fluxo sanguíneo. A hipóxia-reoxigenação pode ser responsável pelo aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral α (TNF α) e interleucina-1 β (IL-1 β), e de fatores anti-angiogênicos, como o receptor solúvel do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF). Ocorrem

também aumento da apoptose trofoblástica e liberação de debris placentários que provocam uma resposta inflamatória sistêmica como descrito por Redman e Sargent (2008). Fisher, McMaster e Roberts (2009) forneceram, recentemente, uma revisão dos mecanismos moleculares envolvidos nestas interações (ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010; HUNG *et al.*, 2004; TJOA *et al.*, 2006; CINDROVA-DAVIES *et al.*, 2007; REDMAN; SARGENT, 2008; FISHER; McMASTER; ROBERTS, 2009).

Esses debris trofoblásticos englobam micropartículas de membrana sinciciotrofoblásticas, fragmentos de citoqueratina, RNA e DNA solúveis de origem fetal, e até células do citotrofoblasto. Tais debris são pró-inflamatórios e estão aumentados na PE (REDMAN; SARGENT, 2005).

2.7 – Fisiopatologia

A doença é heterogênea e a patogênese pode diferir entre mulheres com fatores de risco variados. A patogênese da pré-eclampsia em nulíparas pode diferir da pré-eclâmpsia em mulheres com doença vascular pré-existente, gestação gemelar, *diabetes mellitus* ou pré-eclampsia prévia. Além disso, a fisiopatologia da doença que se desenvolve antes de 34 semanas de gestação pode diferir daquela que se desenvolve no termo, durante o trabalho de parto ou no pós-parto (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; ROBERTS; CATOV, 2008).

Os marcadores fisiopatológicos também são diferentes. Por exemplo, os fatores de angiogênese são capazes de prever melhor a PE de início precoce que a de início tardio (ROBERTS; CATOV, 2008; LEVINE *et al.*, 2004).

Desde os estudos de Gant *et al.* (1987) sabe-se que para a gestação se processar adequadamente, deve ocorrer uma vasodilatação sistêmica que permita expansão plasmática e baixa reatividade do endotélio às substâncias vasoconstritoras do SRA. Na gestante com boa adaptação gestacional, esse estado refratário é promovido por liberação maciça de óxido nítrico. Essa ação depende de endotélio íntegro, já que o óxido nítrico é produzido e armazenado exclusivamente ali. Acredita-se que a angiotensina II, em elevadas concentrações, promove lesão endotelial sistêmica, assim como a aldosterona. Esses componentes do SRA

quando ativados em excesso e sem os antagonistas sintetizados no próprio SRA, promoverão uma escalada aumentada de lesão endotelial sistêmica (rins, fígado, encéfalo, etc.) (BRANDÃO *et al.*, 2010; GANT *et al.* 1987; BROWN, N., 2008).

A lesão endotelial vem sendo estudada CEMEFÉ-HC/UFMG e diversos marcadores de lesão endotelial já foram descobertos e correlacionados com a ocorrência da PE. A literatura clássica e estudos realizados no referido centro confirmam a teoria da placentação secundária deficiente como causa da lesão endotelial dos vasos placentários. Uma exacerbação do sistema renina-angiotensina seria responsável pelo acometimento generalizado do organismo materno. Nos últimos anos, no CEMEFÉ-HC/UFMG marcou-se essa associação com estudos que revelaram elevação da proteína C reativa entre portadoras de PE, associando a progressividade na elevação deste marcador de lesão endotelial com o agravamento da doença. Outro estudo, realizado também no CEMEFÉ-HC/UFMG, revelou importante associação da PE com o fator de estímulo da angiogênese (VEGF) e fator de crescimento placentário (PLGF) (CABRAL *et al.*, 2009; TEIXEIRA *et al.* 2008).

O endotélio vascular é um complexo órgão com propriedades autócrinas, parácrinas e endócrinas. Uma vez considerado apenas uma barreira física entre a parede vascular e o sangue, o endotélio é atualmente reconhecido como um instrumento participante da homeostase vascular, pela sua capacidade em influenciar o tônus arterial, a fibrinólise, o crescimento celular e as reações inflamatórias. O endotélio percebe e responde a vários estímulos externos e internos, através de um complexo de receptores de membranas celulares e mecanismos de transdução, resultando na síntese e liberação de várias substâncias vasoativas, trombo regulatórias e fatores de crescimento (CORRETTI *et al.*, 2002; FAULX; WRIGHT; HOIT, 2003).

A capacidade dos vasos sanguíneos em responder a estímulos químicos e físicos no lúmen confere a habilidade de autorregulação do tônus e o ajuste do fluxo sanguíneo e sua distribuição em resposta a mudanças no ambiente local (CORRETTI *et al.*, 2002; FAULX; WRIGHT; HOIT, 2003).

O endotélio influencia o tônus vascular através da liberação de substâncias vasodilatadoras como a prostaciclina e o óxido nítrico (NO). Em 1987, o NO foi identificado como um fator derivado do endotélio capaz de provocar vasodilatação

por provocar relaxamento da musculatura lisa vascular. Além disso, o NO media várias outras funções endoteliais, incluindo a inibição da agregação plaquetária e a ativação de neutrófilos (LYALL, 1996; MEADS *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2004; PECHÁNOVÁ; SIMKO, 2007)

Acredita-se que o NO contribui, pelo menos em parte, para as adaptações vasculares fisiológicas da gestação normal. A liberação de óxido nítrico pelo endotélio parece ser o principal responsável para a diminuição da resistência vascular sistêmica observada durante a gravidez. Além disso, tem sido proposto que a diminuição da liberação de NO ou sua maior inativação está relacionada à disfunção endotelial característica da PE. Assim, a disponibilidade reduzida do NO pode desempenhar um papel importante na fisiopatologia da PE (MEADS *et al.*, 2008; SIERRA-LAGUADO; GARCIA; LÓPEZ-JARAMILLO, 2006; TAKATA; NAKATSUKA; KUDO, 2002; COCKELL; POSTON, 1997; SLADEK; MAGNESS; CONRAD, 1997).

A redução do NO pode ser causada por:

- 1) diminuição da expressão da eNOS(NO sintetase);
- 2) substratos insuficientes (L-arginina) para a síntese de eNOS ou a presença de antagonistas (dimetilarginina assimétrica);
- 3) ativação prejudicada da eNOS e
- 4) aumento no índice de degradação de NO (FAULX; WRIGHT; HOIT, 2003).

Um desequilíbrio nos fatores angiogênicos e antiangiogênicos circulantes derivados da placenta está emergindo como um mecanismo proeminente na mediação da disfunção endotelial e no aparecimento dos sinais e sintomas da PE. A condição está associada com produção reduzida de proteínas pró-angiogênicas como o PLGF (fator de crescimento placentário), e o VEGF (fator de crescimento vascular), além de aumento de fatores antiangiogênicos como o sFlt-1 (BAUMWELL; KARUMANCHI, 2007; AKOLEKAR *et al.* 2008; TAYLOR *et al.*, 2003; MASUYAMA *et al.*, 2006; CRISPI *et al.*, 2006; CRISPI *et al.*, 2008; OHKUCHI *et al.*, 2007; TEIXEIRA *et al.*, 2008; KRAUSS; PAUER; AUGUSTIN, 2004; EREZ *et al.*, 2008; THADHAN *et al.*, 2004).

Numa gestação saudável, uma interação apropriada entre o trofoblasto endovascular e os leucócitos da decídua, especialmente as células *natural-killer*, resultam em liberação substancial de VEGF e PLGF. Altas concentrações de VEGF livre são importantes para manter o estado quiescente endotelial numa situação de stress inflamatório típico da gestação (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005).

As proteínas pró-angiogênicas VEGF (fator de crescimento vascular) e PLGF (fator de crescimento placentário) estão envolvidas na regulação do desenvolvimento vascular placentário e função endotelial materna durante a gestação. Cada uma delas exerce um efeito potencialmente favorável no endotélio, incluindo a promoção de secreção de óxido nítrico por bloqueio do receptor Flt1. Vários estudos têm demonstrado que durante a fase clínica da doença a concentração materna de PLGF está reduzida. Esses níveis reduzidos de PLGF precedem o aparecimento clínico da doença e são evidentes no segundo e primeiro trimestres de gestação (SAVVIDOU *et al.*, 2008; MAYNARD *et al.*, 2003; KENDALL; WANG; THOMAS, 1996; SHIBUYA, 2001; KENDALL; THOMAS, 1993; BAUMWELL; KARUMANCHI, 2007; AKOLEKAR *et al.*, 2008; 2008; TAYLOR *et al.*, 2003; MASUYAMA *et al.*, 2006; CRISPI *et al.*, 2006; CRISPI *et al.*, 2008; OHKUCHI *et al.*, 2007; TEIXEIRA *et al.*, 2008; KRAUSS; PAUER; AUGUSTIN, 2004; EREZ *et al.*, 2008; THADHANI *et al.*, 2004).

O receptor Flt1 também existe na sua forma solúvel (sFlt1). O sFlt1 é um potente antagonista do VEGF e do PLGF porque ele se liga a eles, impedindo sua ligação a outros receptores. O sFlt-1 é, portanto, um fator antiangiogênico. Níveis elevados de sFlt-1 e níveis baixos de PLGF têm sido detectados na fase clínica da PE, 5 semanas antes do diagnóstico clínico da PE (SAVVIDOU *et al.*, 2008; MAYNARD *et al.*, 2003; KENDALL; WANG; THOMAS, 1996; SHIBUYA, 2001; KENDALL; THOMAS, 1993).

A disfunção endotelial resulta numa série de alterações associadas com o estreitamento dos vasos e aumento na tendência a formação de coágulos. Essas alterações incluem a produção reduzida de vasodilatadores e anticoagulantes (como a prostaciclina e o NO), aumento na produção de vasoconstritores e agregantes plaquetários (como o tromboxano A2 e endotelina), aumento na responsividade do endotélio aos vasopressores angiotensina II (ANG II) e uma elevação das proteínas da cascata de coagulação (como o fator de Von Willebrand). A ANG II aumenta o

tônus vascular, resultando em aumento da resistência vascular periférica e hipertensão que são características da PE. Além da vasoconstrição generalizada e da ativação plaquetária e do sistema de coagulação, estas alterações promovem a saída de fluido para o interstício, causando edema e redução do volume sanguíneo circulante. Ocorre, então, fluxo sanguíneo inadequado para vários órgãos maternos, especialmente para os rins, fígado e cérebro. A vasoconstrição associada com a formação de microcoágulos, a redução do volume sanguíneo circulante e o aumento da permeabilidade vascular resultam nas manifestações clínicas da PE (hipertensão, edema e proteinúria). O aumento da permeabilidade endotelial pode estar associado com a diminuição da expressão da óxido-nítrico sintetase. O efeito protetor da óxido-nítrico sintetase (e-NOs) nas células endoteliais já é bem conhecido (MEADS *et al.*, 2008; PURWOSUNU *et al.*, 2008; SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; SHAH, 2005).

A produção inadequada de prostaciclina e de óxido nítrico fornecem uma explicação plausível para a ativação plaquetária que ocorre no interior das artérias espiraladas. O aumento da proporção tromboxano A₂/prostaciclina pode reduzir o fluxo sanguíneo uteroplacentário levando a trombose das artérias espiraladas e infartos placentários (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005).

Os órgãos que expressam componentes do sistema renina-angiotensina-aldosterona parecem estar mais frequentemente comprometidos na PE. Com a má adaptação vascular e com o aumento da sensibilidade vascular à ANG II e à norepinefrina, com a redução da biodisponibilidade de NO e com o excesso de sFlt-1, a vasoconstrição renal pode ocorrer progressivamente resultando em deterioração da função renal. Na PE, a disfunção endotelial nos rins é evidenciada pela proteinúria e pela evidência morfológica de endoteliose glomerular (SHAH, 2005).

A PE é caracterizada por resposta vascular anormal à placentação, associada ao aumento de resistência vascular sistêmica, agregação plaquetária, ativação do sistema de coagulação e disfunção endotelial (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005).

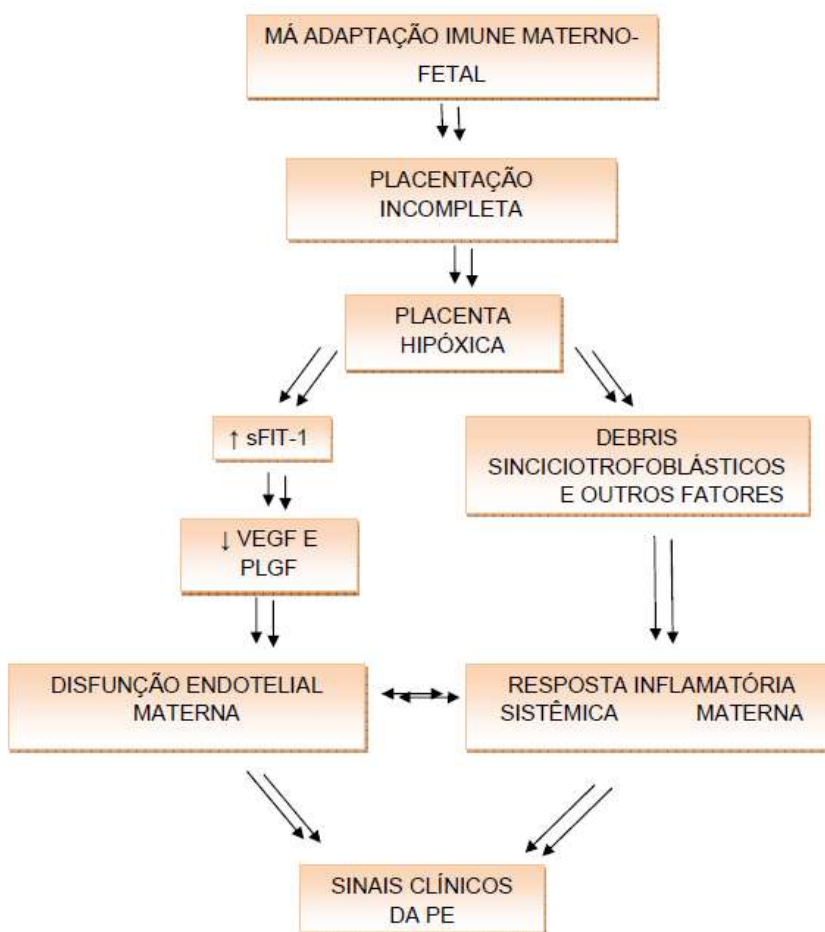


FIGURA 3 – Diagrama de Desenvolvimento da Pré-Eclampsia
 Fonte: REDMAN; SARGENT, 2005, p. 1593 (adaptação nossa).

2.8 - Predição

O rastreamento de mulheres com risco para PE é importante na assistência pré-natal. Uma vez que a mulher foi identificada como alto risco para desenvolvimento de PE, ela pode ser alvo de vigilância antenatal intensiva e intervenções profiláticas. A maioria das estratégias de acesso ao risco para desenvolver PE é baseada na história clínica (MEADS *et al.*, 2008).

As pesquisas sobre PE têm sido extensivas durante a última década, mas nenhum resultado acrescentou muito no que diz respeito à predição ou à prevenção

da doença. O principal impedimento no desenvolvimento de tais métodos é a pequena compreensão a respeito dos vários mecanismos patológicos que levam ao quadro de PE, assim como dos critérios inconsistentes usados para defini-la (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005). Atualmente, a maioria dos estudos sobre predição de PE utiliza métodos biofísicos e bioquímicos (AKOLEKAR *et al.*, 2008; YU *et al.*, 2005; ESPINOZA *et al.*, 2007; STEPAN *et al.*, 2007).

Estudos têm demonstrado que a predição da PE pode ser alcançada por estudo Doppler das artérias uterinas no segundo trimestre da gestação. Isso pode ser melhorado combinando os achados ao Doppler com a concentração sérica de PLGF materna, além das concentrações séricas maternas de fatores antiangiogênicos como o sFlt-1 (AKOLEKAR *et al.*, 2008; YU *et al.*, 2005; ESPINOZA *et al.*, 2007; STEPAN *et al.*, 2007).

Recentemente também foi demonstrado a existência de correlação entre a presença de incisura bilateral das artérias uterinas e os valores de dilatação fluxo mediada (FMD) da artéria braquial em gestantes que desenvolveram PE antes de 34 semanas de gestação. Essa constatação corrobora o papel desse exame como capaz de identificar pacientes em risco de desenvolverem PE (BRANDÃO *et al.*, 2011b; BRODSZKI *et al.*, 2008).

A dilatação fluxo mediada da artéria braquial é um exame de grande valor para a propedêutica e acompanhamento da função endotelial na PE. Apesar das dificuldades técnicas e da falta de padronização ainda existentes, não há motivo para que este método não seja bem aceito na prática clínica. Vários estudos relatam que, quando aplicada a técnica correta e quando realizado por examinador treinado, a FMD possui boa reprodutibilidade (BRANDÃO *et al.*, 2011a; RAITAKARI; CELERMAJER, 2000; SORENSEN *et al.*, 1995).

É interessante ressaltar que os valores diminuídos de FMD da artéria braquial não se relacionam diretamente com marcadores bioquímicos de insuficiência placentária, como o endoglin solúvel (sEng), antiangiogênico, ou o fator de crescimento placentário (PLGF), angiogênico (SAVVIDOU *et al.*, 2008).

2.8.1 – Métodos biofísicos

Takata, Nakatsuka e Kudo (2002) demonstraram que o Doppler das artérias uterinas, o Doppler das artérias oftálmicas e a vasodilatação fluxo mediada da artéria braquial (FMD) variam entre as mulheres com PE. (TAKATA; NAKATSUKA; KUDO, 2002)

2.8.1.1 – Doppler das artérias uterinas

O processo fisiológico da invasão trofoblástica pode ser demonstrado pela avaliação dopplervelocimétrica, que mostra uma queda na impedância do fluxo nas artérias uterinas entre 6 e 24 semanas, mantendo-se constante após esse período. Pacientes que desenvolvem PE apresentam índice de pulsatilidade (IP) das artérias uterinas aumentado no primeiro e segundo trimestres. (BRANDÃO *et al.*, 2010; MEADS *et al.*, 2008; PLASENCIA *et al.*, 2008)

O estudo Doppler de artérias uterinas para screening de PE é melhor para detectar PE grave do que PE leve, em qualquer fase da gestação. Índices de resistência aumentados no primeiro trimestre são particularmente efetivos em identificar PE de início precoce, em relação à PE de início tardio. Plasencia *et al.* (2008) avaliaram o IP das artérias uterinas em 3107 pacientes e demonstraram que: 77% das pacientes que desenvolveram PE precoce e 27% das pacientes que desenvolveram PE tardia apresentaram o IP das artérias uterinas acima do percentil 90, entre 11 e 13 semanas de gestação. Os autores realizaram uma nova avaliação dopplervelocimétrica das artérias uterinas entre 21 e 24 semanas nessas pacientes e observaram que ocorreu persistência dos valores do IP das artérias uterinas acima do percentil 90 em 94% dos casos de PE precoce, em 37% dos casos de PE tardia e em 37% dos casos que não desenvolveram PE (ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010; PILALIS *et al.*, 2007; CRISPI *et al.*, 2008; BRANDÃO *et al.*, 2010; PLASENCIA *et al.*, 2008; AKOLEKAR *et al.*, 2008)

A presença de incisura proto-diafólica nas artérias uterinas após 26 semanas de gestação correlaciona-se com o desenvolvimento de PE e de CIUR (BRANDÃO *et al.*, 2010; MEADS *et al.*, 2008).

2.8.1.2 – Doppler das artérias oftálmicas

O estudo Doppler das artérias oftálmicas é uma ferramenta útil no acompanhamento da PE. HATA, HATA e MORITAKE (1997) demonstram que a PE estava associada com diminuição significativa da resistência vascular nas artérias oftálmicas (TAKATA; NAKATSUKA; KUDO, 2002; HATA, T.; HATA, K.; MORITAKE, 1997).

Em um estudo realizado no Hospital das Clínicas da UFMG (HC/UFMG), o índice de resistência das artérias oftálmicas foi o preditor mais relevante da síndrome da encefalopatia reversível da PE. Com base na curva ROC obtida neste estudo, a probabilidade de ocorrência da encefalopatia reversível da PE é progressivamente maior com valores progressivamente menores do índice de resistência das artérias oftálmicas. Índices de resistência das artérias oftálmicas $\leq 0,56$ foram associados com risco 12,6 vezes maior de desenvolvimento de encefalopatia transitória da PE (BARBOSA *et al.*, 2010).

2.8.1.3 – Dilatação fluxo mediada (FMD) da artéria braquial

Existem evidências sugerindo que a disfunção endotelial está envolvida em várias patologias da gestação, como na PE. A função endotelial também é um importante fator na patogênese da aterosclerose, hipertensão e falência cardíaca (SAVVIDOU *et al.*, 2000; ROBERTS; REDMAN, 1993; McCARTHY *et al.*, 1993; MEREDITH *et al.*, 1996; JOANNIDES *et al.*, 1995; TAKATA; NAKATSUKA; KUDO, 2002).

A capacidade dos vasos sanguíneos em responder a estímulos químicos e físicos no lúmen confere a habilidade de autorregulação do tônus e o ajuste do fluxo

sanguíneo e sua distribuição em resposta a mudanças no ambiente local. Vários vasos sanguíneos respondem com vasodilatação quando ocorre um aumento do fluxo sanguíneo ou, mais precisamente, um estresse. O principal mediador desta vasodilatação é o NO endotelial. Uma importante consequência funcional da disfunção endotelial é a incapacidade em liberar óxido nítrico (SAVVIDOU *et al.*, 2000; ROBERTS; REDMAN, 1993; McCARTHY *et al.*, 1993; MEREDITH *et al.*, 1996; JOANNIDES *et al.*, 1995; CORRETTI *et al.*, 2002; FAULX; WRIGHT; HOIT, 2003).

Um dos métodos não invasivos usados para analisar a função endotelial é a avaliação do fluxo sanguíneo através da ultrassonografia. A dilatação fluxo mediada (FMD) da artéria braquial consiste em uma técnica simples, não invasiva e capaz de mensurar a resposta vascular através da variação do diâmetro basal da artéria e após um período de oclusão vascular, conseguida por meio da insuflação de um esfigmomanômetro. Observa-se que pacientes com alteração endotelial apresentam resposta de vasodilatação reduzida e, em alguns casos, até mesmo vasoconstrição pode ser observada. Um aumento do valor da FMD da artéria braquial representa função endotelial preservada, enquanto um valor diminuído da FMD representa disfunção endotelial (CUNHA FILHO *et al.*, 2010; FAULX; WRIGHT; HOIT, 2003; MOENS *et al.*, 2005; SAVVIDOU *et al.*, 2000; ROBERTS; REDMAN, 1993; McCARTHY *et al.*, 1993; MEREDITH *et al.*, 1996; JOANNIDES *et al.*, 1995; CORRETTI *et al.*, 2002; FAULX; WRIGHT; HOIT, 2003).

A dilatação fluxo mediada da artéria braquial foi descrita pela primeira vez em humanos por Anderson e Mark (1989). A técnica de execução do exame foi desenvolvida ao longo da década de 1990, sendo um teste bem estabelecido de avaliação da função endotelial, altamente dependente da capacidade das células endoteliais em liberar NO. Esse exame é muito usado também por cardiologistas para determinar lesão endotelial das artérias coronárias (CABRAL *et al.*, 2009; SIERRA-LAGUADO; GARCIA; LÓPEZ-JARAMILLO, 2006; TAKATA; NAKATSUKA; KUDO, 2002; ANDERSON; MARK, 1989).

A vasodilatação fluxo mediada é uma função endotélio dependente. O estímulo induz o endotélio a liberar óxido nítrico (NO), resultando numa vasodilatação que pode ser visualizada e quantificada como um índice de função vasomotora. Observa-se que, no endotélio lesado, a quantidade de NO liberada não é capaz de provocar a vasodilatação, promovendo aumento do lúmen vascular em

proporção menor do que o esperado (CORRETTI *et al.*, 2002; SORENSEN *et al.*, 1995; BRANDÃO *et al.*, 2011b; PECHÁNOVÁ; SIMKO, 2007; TAKATA; NAKATSUKA; KUDO, 2002).

Estudos comprovam que a gestação, por si só, eleva os valores da FMD em gestantes sem intercorrências clínicas, se comparadas a não gestantes saudáveis da mesma idade. Esse aumento se dá após 10 semanas de gestação, principalmente, a partir do segundo trimestre. Existem controvérsias na literatura se esses valores permanecem aumentando ou se diminuem no terceiro trimestre, mas de qualquer forma, ainda se mantêm maiores que os valores de não gestantes (SIERRA-LAGUADO; GARCIA; LÓPEZ-JARAMILLO, 2006; SAVVIDOU *et al.*, 2000; TAKATA; NAKATSUKA; KUDO, 2002).

Savvidou *et al.* (2003) demonstraram que os valores de FMD se alteram previamente ao aumento dos níveis pressóricos em pacientes que desenvolvem PE. Uma vez que a lesão endotelial sistêmica é o fator responsável pela hipertensão na fisiologia da doença, era provável que um acompanhamento longitudinal dos níveis de FMD pudesse servir como um preditor de PE como já foi demonstrado em alguns estudos (BRANDÃO *et al.*, 2011b; SAVVIDOU *et al.*, 2003).

Desde 1992, quando Celermajer *et al.* desenvolveram a técnica, a FMD tem sido considerada um método seguro, de relativo baixo custo e não invasivo de aferição da função endotelial vascular. No entanto, apesar do seu uso difundido, existem limitações técnicas e interpretativas. Num esforço em padronizar a medida entre os pesquisadores, Corretti *et al.* publicaram em 2002 um manual inicial para aferição ultrassonográfica da FMD da artéria braquial. Em 2005, uma meta-análise de 250 estudos revelou que aspectos técnicos da medida (como o local de oclusão e sua duração) poderiam explicar as diferenças dos valores de FMD encontradas entre os diversos estudos. Mais recentemente, Pyke e Tschakovsky forneceram uma atualização do manual apresentado por Corretti *et al.* Em abril de 2010, Harris *et al.* publicaram um tutorial fornecendo uma atualização de instruções técnicas para a realização e a interpretação da FMD, que têm sido seguidas atualmente. (CELERMAJER *et al.*, 1992; UEHATA *et al.*, 1997; CORRETTI *et al.*, 2002; BOTS *et al.*, 2005; PYKE *et al.*, 2005; HARRIS *et al.*, 2010; BRANDÃO *et al.*, 2011a;).

Numerosos fatores afetam a reatividade vascular fluxo mediada, incluindo temperatura, drogas, alimentos, entre outros. Por isso, os pacientes devem dormir durante, pelo menos, 8 a 12 horas antes do estudo, devendo ser estudados num ambiente tranquilo, com temperatura aproximada de 26°C. Além disso, a paciente deve estar em jejum de 8 horas. Todas as medicações vasoativas, alimentos gordurosos e ricos em vitamina C e cafeína devem ser suspensos, se possível, por pelo menos 6 horas. As pacientes não devem se exercitar e não devem fumar por, pelo menos, 4 a 6 horas antes do estudo (CORRETTI *et al.*, 2002; CELERMAJER *et al.*, 1994).

O equipamento de ultrassom deve ser equipado com um *software* vascular para imagem em duas dimensões, Doppler colorido e um transdutor de alta frequência. Um transdutor linear com uma frequência mínima de 7mhz é suficiente para adquirir imagens com uma boa resolução para análise subsequente. A resolução da imagem aumenta se for usado um transdutor linear de múltiplas frequências - 7-12mhz (CORRETTI *et al.*, 2002; RAITAKARI; CELERMAJER, 2000; FAULX; WRIGHT; HOIT, 2003).

A paciente deve ser mantida em decúbito dorsal por, no mínimo, 10 minutos. É colocada em posição supina com o braço em posição confortável para a visualização da artéria braquial. A artéria braquial deve ser visualizada acima da fossa cubital, num plano longitudinal, com uma insonação perpendicular do transdutor em relação ao vaso. Um segmento da artéria com interface bem definida entre a íntima e o lúmen é selecionado para estudo em escala de cinza, para aferição do diâmetro do vaso. Uma vez escolhida a imagem para análise, os limites da medida do diâmetro do vaso são identificados manualmente por meio de *calipers* (CORRETTI *et al.*, 2002; FAULX; WRIGHT; HOIT, 2003).

Para criar um estímulo de fluxo na artéria braquial, um esfigmomanômetro é colocado acima da fossa ante cubital. O aparelho é insuflado geralmente 50mmHg acima da PA sistólica ou até 300mmHg, ocluindo a artéria braquial por quatro a cinco minutos. Esse procedimento causa isquemia e conseqüente dilatação do vaso via mecanismos autorregulatórios. O aumento no fluxo sanguíneo estimula a atividade da NO sintetase (NOs) endotelial, aumentando a produção de óxido nítrico (NO). O NO produzido é difundido para as células musculares lisas da camada

média da artéria, provocando vasodilatação. O calibre do vaso é aferido 1 minuto após a deflação lenta do manguito. A variação do diâmetro da artéria braquial é então calculada. As medidas são sempre realizadas em três pontos diferentes da artéria braquial e uma média é calculada. Considera-se alterada uma variação menor que 10% (CORRETTI *et al.*, 2002; BRANDÃO *et al.*, 2011b; FAULX; WRIGHT; HOIT, 2003)

A FMD é geralmente expressa pela mudança percentual do diâmetro do vaso pós-estímulo, quando comparado com o diâmetro do vaso basal. No entanto, a melhor maneira de avaliar a FMD é registrando a medida do diâmetro basal do vaso, o valor absoluto da modificação pós-estímulo e o valor percentual da mudança (CORRETTI *et al.*, 2002; BOTS *et al.*, 2005).

A variabilidade intraobservador e interobservador na aquisição das imagens e na análise devem ser estabelecidos e testados periodicamente. A maior reprodutibilidade pode ser conseguida através de duas medidas realizadas no mesmo dia, com menos de 15 minutos de intervalo entre elas (CORRETTI *et al.*, 2002).

Bots *et al.* (2005) realizaram um estudo de revisão de literatura de trabalhos com FMD da artéria braquial publicados entre 1992 e 2001. A maioria dos estudos utilizou o modo B do ultrassom (87,7%). Em 89,9% dos estudos, a medida foi realizada acima da fossa cubital e a compressão com manguito foi realizada no antebraço em 81,6%. A duração da compressão foi de 4-5 minutos em 84,4% dos estudos e a pressão de compressão foi maior que 250mmHg em cerca de 40% dos estudos. A média dos valores de FMD diferiu muito entre os vários estudos. Os achados sugeriram que aspectos técnicos da medida, a localização e duração da oclusão realizada poderiam explicar algumas dessas diferenças. O tipo de equipamento de ultrassom utilizado, o local da medida e a pressão de oclusão não alteraram os resultados. Os valores encontrados de FMD são menores quando a compressão é feita no antebraço em relação a compressão realizada no braço (proximalmente ao local onde é feita a medida do diâmetro da artéria braquial). Mostrou também que um tempo de compressão maior que quatro minutos e 30 segundos leva a um aumento no valor da FMD se comparado com a compressão aplicada por menos de 4 minutos. Não parece haver grande variação no exame aplicando-se pressão superior a 250mmHg. O tipo de equipamento ultrassonográfico

utilizado (modo B ou modo M) parece, também, não influenciar significativamente no resultado do exame (BOTS *et al.*, 2005).

Em um estudo realizado no CEMEFE-HC/UFMG, foram examinadas 15 mulheres sem comorbidades. Cada paciente foi submetida à realização da FMD em 2 ocasiões: uma em que foi realizada a compressão proximal do membro superior ao local da medida e uma segunda vez, em que foi realizada a compressão proximal do membro superior ao local da medida. Esse estudo mostrou que o resultado da FMD é significativamente menor se a compressão for realizada distalmente ao local da medida. Esse resultado corrobora a necessidade de se padronizar o método ou descrever minuciosamente todas as etapas técnicas de sua realização para permitir melhor reprodutibilidade dos estudos (BRANDÃO *et al.*, 2011a)

Takata, Nakatsuka e Kudo (2002) examinaram 99 mulheres gestantes e concluíram que a avaliação das artérias uterinas e oftálmicas e a avaliação da dilatação fluxo mediada (FMD) da artéria braquial ajudam a diferenciar o grau de severidade da PE. O índice de pulsatilidade das artérias uterinas nas pacientes com PE foi significativamente maior do que o índice das gestantes do grupo controle. O índice de pulsatilidade da artéria uterina foi significativamente maior no grupo de pacientes com PE grave em relação ao grupo com PE leve. A FMD da artéria braquial em mulheres com PE leve foi significativamente menor em relação às gestantes do grupo controle. A FMD da artéria braquial nas mulheres com PE e CIUR foi significativamente menor em relação ao das gestantes com PE e sem CIUR (TAKATA; NAKATSUKA; KUDO, 2002).

2.8.2 – Métodos bioquímicos

Recentemente, vários marcadores bioquímicos têm sido considerados preditores de quais mulheres estariam propensas a desenvolver PE. Esses marcadores de angiogênese geralmente são escolhidos baseados nas anormalidades fisiopatológicas específicas associadas à PE, isto é, marcadores relacionados com a disfunção placentária, ativação endotelial e coagulação, inflamação sistêmica (SIBAI; STELLA, 2009 ; LEVINE *et al.*, 2006; LEVINE *et al.*,

2004; SALAHUDDIN *et al.*, 2007; ROBINSON; JOHNSON, 2007; SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; WANG *et al.*, 2004).

A análise de screening do soro materno é um teste não invasivo da função bioquímica placentária. Existe um interesse crescente em identificar e utilizar marcadores de primeiro trimestre para PE e CIUR. No entanto, cada análise de marcador no soro materno isoladamente não tem acurácia suficiente para a recomendação do seu uso de rotina na prática clínica. Resultados combinados de marcadores bioquímicos, como a redução do PLGF e a elevação do sFlt-1 e do endoglin, com outros testes biofísicos e fatores de risco clínicos podem ser um caminho para melhorar a predição da PE (ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010).

Vários fatores têm sido estudados, sendo o receptor solúvel do VEGF (fator de crescimento endotelial vascular), também conhecido como sFlt-1, um dos mais importantes. Ele se liga ao VEGF e ao PLGF (fator de crescimento placentário), privando o endotélio sistêmico de fatores essenciais à sobrevivência (REDMAN; SARGENT, 2005).

Kusanovik *et al.* (2009) estudaram o papel do PLGF, do endoglin solúvel (sEng) e do sFlt-1 no plasma materno na gravidez precoce (6-15 semanas) e no segundo trimestre (20-25 semanas) de gestação em identificar pacientes destinadas a desenvolver PE. Os fatores angiogênicos e antiangiogênicos isoladamente não identificaram bem as pacientes em risco de desenvolver PE no geral, particularmente na PE a termo. Em contraste, a combinação destes marcadores, como o índice PLGF/sEng, tiveram a melhor performance em predizer PE, com uma sensibilidade de 100%, uma especificidade de 98-99% na predição da PE precoce. No estudo de Savvidou *et al.* (2008) ficou demonstrado que as concentrações plasmáticas de PLGF e endoglin estão alterados em mulheres que desenvolvem PE. No entanto, essas alterações não se correlacionaram diretamente com a disfunção endotelial materna (ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010; KUSANOVIC *et al.*, 2009; SAVVIDOU *et al.*, 2008).

Purwosunu *et al.* (2009) realizaram um estudo de coorte prospectivo, no qual estudaram amostras de sangue de mulheres entre 15 e 20 semanas de gestação, realizando uma análise multivariada para vários marcadores de angiogênese. Neste estudo, um painel de RNAm foi dosado muito antes do desenvolvimento da PE. A análise uni-variada por curva ROC mostrou que o sFlt-1 foi o marcador com maior

capacidade de predição para PE, seguido pelo endoglin. Tais resultados sugerem que os fatores angiogênicos como o sFlt-1 e o endoglin desempenham um papel mais importante nas fases precoces do desenvolvimento da PE. As concentrações de sFlt-1 e endoglin estão aumentadas no plasma materno antes do aparecimento clínico da PE e se correlacionam com sua gravidade. O melhor modelo, no entanto, foi obtido combinando-se todos os marcadores. Uma curva ROC obteve um índice de predição de 84%, com um índice de 5% de falso positivo ($p < 0,001$). Esses resultados oferecem a melhor maneira para predição de PE em populações de baixo risco. Concluindo, a avaliação da função placentária pode ser realizada através da análise plasmática do RNAm desses marcadores nas gestantes em fases precoces da gestação (PURWOSUNU *et al.*, 2009; LEVINE *et al.*, 2006; LEVINE *et al.*, 2004).

Alguns estudos também propuseram que a magnitude do desequilíbrio entre os fatores angiogênicos se correlaciona com a gravidade da doença e com o aparecimento precoce da PE. Os fatores angiogênicos, marcadores fisiopatológicos da PE, são melhores preditores da PE precoce que da PE que se desenvolve tardiamente na gravidez (SIBAI; STELLA, 2009; LEVINE *et al.*, 2006; LEVINE *et al.*, 2004; SALAHUDDIN *et al.*, 2007; ROBINSON; JOHNSON, 2007; SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; WANG *et al.*, 2004).

2.8.2.1 - PAPP-A

Muitos estudos têm demonstrado que a concentração reduzida de PAPP-A (proteína A plasmática associada à gestação) no soro materno entre 11 e 14 semanas de gestação aumenta o risco de desenvolvimento de PE e parto prematuro. No entanto, o valor preditivo do PAPP-A isolado é pobre (ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010; SPENCER *et al.*, 2005; PIHL *et al.*, 2008).

2.8.2.2 – NKB

Estudos iniciais indicaram que a neurocinina B (NKB) está presente em altas concentrações no plasma de mulheres com PE. O NKB é produzido pelo sinciciotrofoblasto e pode ser detectado no sangue materno desde 9 semanas de gestação. Ele é um potencial marcador para predição de PE. No entanto, ainda são necessários estudos longitudinais com o NKB (FAYYAD; HARRINGTON 2005).

2.8.2.3 - Homocisteína

A maioria dos estudos revela um aumento da homocisteína, potente mediador de disfunção endotelial, em pacientes com PE. Um estudo mostrou que níveis de homocisteína $> 10\mu\text{mol/L}$ com 15 semanas de gestação aumentava o risco de desenvolver PE em 2,8 vezes (NESS; HUBEL, 2005; COTTER 2001).

2.8.2.4 – Inibina A e ativina A

Mulheres com PE possuem níveis de inibina A e ativina A aproximadamente 10 vezes maior durante a doença estabelecida. Isso não acontece em pacientes com hipertensão arterial crônica (HAC) e em hipertensão induzida pela gestação, sem proteinúria. O potencial desses marcadores em identificar mulheres assintomáticas em risco de PE é menos certo (FAYYAD; HARRINGTON, 2005).

2.8.2.5 – Endoglin

O endoglin é um co-receptor de membrana celular muito presente nas células endoteliais e no trofoblasto. Ele desempenha um papel crucial no reparo vascular mediado por células sanguíneas e tem sido considerado um importante regulador negativo da invasão trofoblástica e do desenvolvimento placentário. O endoglin solúvel (s-Eng) tem sido identificado como uma nova proteína anti-angiogênica. Ele

age sinergicamente com o sFlt-1, induzindo disfunção endotelial (ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010; SIGNORE *et al.*, 2008; STEPAN *et al.*, 2008).

Tem sido demonstrado que os níveis de s-Eng aumentam mais e mais precocemente em mulheres que desenvolvem PE subsequente, principalmente na PE precoce. Existem resultados conflitantes em relação aos níveis de s-Eng no primeiro trimestre e o desenvolvimento posterior de PE. Enquanto alguns estudos mostraram que os níveis de s-Eng estavam aumentados no primeiro trimestre de gestação, outros não encontraram diferença entre os níveis de s-Eng medidos antes de 16 semanas entre mulheres que desenvolveram PE posteriormente e as mulheres controle (ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010; SIGNORE *et al.*, 2008; BAUMANN *et al.*, 2008).

2.8.2.6 – PLGF e VEGF

Marcadores de angiogênese circulantes incluem o VEGF e o PLGF. Eles parecem contribuir para a proliferação e implantação normais do trofoblasto (ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010; POWERS *et al.*, 2005; MAYNARD *et al.*, 2003; SUGIMOTO *et al.*, 2003).

O aumento significativo do PLGF no soro materno coincide com o aumento da perfusão na interface materno-fetal, aproximadamente à 12^a até a 14^a semana de gestação. Estudos mostram que o PLGF encontra-se relativamente baixo entre cinco e 15 semanas de gestação, aumentando dramaticamente entre 15 e 26 semanas de gestação. Os níveis de PLGF atingem o pico entre 26 a 30 semanas de gestação, diminuindo significativamente até o termo. A correlação entre a expressão de PLGF e perfusão placentária sugere que o PLGF contribui para garantir o desenvolvimento e função vascular adequados na placenta precocemente na gestação (WELCH *et al.*, 2006).

A concentração materna de PLGF está significativamente reduzida nos casos clínicos evidentes de PE. Concentrações diminuídas de PLGF e VEGF livres são identificadas durante a fase clínica da PE e antes do seu aparecimento. Numerosos estudos documentaram que a concentração de PLGF no primeiro trimestre de

gestação já está reduzida nas mulheres que desenvolverão PE. Esses dados são compatíveis com o papel dos fatores angiogênicos decíduais, em particular o PLGF que é essencial para o desenvolvimento placentário precoce. Essa hipótese é defendida por Levine *et al.* (2004) (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; LEVINE *et al.*, 2004).

Estudos recentes confirmaram que essas mudanças podem ser detectadas com 17 semanas de gestação. Outra pesquisa, também recente, demonstra que o PLGF está significativamente reduzido com 24 semanas de gestação em pacientes com Doppler de artéria uterina alterado que desenvolveram PE, comparado com gestações normais (FAYYAD; HARRINGTON, 2005; NESS; HUBEL, 2005; ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010; MAYNARD *et al.*, 2003; TAYLOR *et al.*, 2003; THADHANI *et al.*, 2004; AKOLEKAR *et al.*, 2008; CRISPI *et al.*, 2008; TEIXEIRA *et al.*, 2008; LEVINE *et al.*, 2004; KOGA *et al.*, 2003; ZHOU *et al.*, 2002).

Infelizmente, o VEGF não tem sido considerado útil como marcador de rastreamento para PE, pois ele se liga com maior afinidade com o sFlt-1 do que o PLGF, tornando a concentração de VEGF livre extremamente baixa no soro materno (ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010; TAYLOR *et al.*, 2003; THADHANI *et al.*, 2004).

2.8.2.7 – sFlt-1

Tem sido demonstrado que o trofoblasto isquêmico sintetiza fatores antiangiogênicos, como o sFlt-1. Isso priva o endotélio vascular materno de fatores angiogênicos essenciais, causando disfunção endotelial sistêmica que culmina com a síndrome da PE. O sFlt-1 não é específico da gestação, mas é secretado no sangue materno pelo trofoblasto, estimulado pela hipóxia. Os resultados da pesquisa de Staff *et al.* (2005) mostraram a não existência de contribuição significativa do feto no aumento da concentração materna de sFlt-1 na PE. Tais resultados reforçaram a hipótese de que a elevação da concentração de sFlt-1 na circulação de mulheres com PE é predominantemente de origem placentária (ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010; POWERS *et al.*, 2005; MAYNARD *et al.*, 2003; SUGIMOTO *et al.*, 2003; REDMAN; SARGENT, 2005; STAFF *et al.*, 2005).

O sFlt-1 (soluble fms-like tyrosine kinase 1), uma variante do receptor Flt1 para VEGF, atua como um potente antagonista do VEGF e do PLGF (fator de crescimento placentário). Essa proteína age aderindo-se ao PLGF e VEGF, impedindo a ligação deles com seus receptores no endotélio, levando a disfunção endotelial (LEVINE *et al.*, 2004; MAYNARD *et al.*, 2003; KOGA *et al.*, 2003; ZHOU *et al.*, 2002; TAYLOR *et al.*, 2003; SHAH, 2005; ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010; POWERS *et al.*, 2005; SUGIMOTO *et al.*, 2003).

O VEGF e o PLGF causam relaxamento microvascular em arteríolas renais de ratos *in vitro*, bloqueado pela ação do sFlt-1. Levine *et al.* (2004) demonstraram recentemente que a infusão experimental de sFlt-1 em ratas gestantes induz hipertensão, proteinúria e endoteliose glomerular que é patognomônica da PE. Essas observações sugerem que o excesso de sFlt-1 circulante pode contribuir para a patogênese da PE. A infusão de anticorpos monoclonais que neutralizam o VEGF, mimetizando a ação do sFlt-1, causa hipertensão e proteinúria, características da PE. O mecanismo que explica o excesso de produção de sFlt-1 placentário na PE ainda não está bem definido (REDMAN; SARGENT, 2005; SHAH, 2005; LEVINE *et al.*, 2004; MAYNARD *et al.*, 2003; KOGA *et al.*, 2003; TAYLOR *et al.*, 2003; FAYYAD; HARRINGTON, 2005; NESS; HUBEL, 2005).

Levine *et al.* (2004) e outros pesquisadores mostraram que a proteína antiangiogênica sFlt-1 circulante está aumentada na placenta e no soro de mulheres com PE, em comparação com gestantes controle normais. No primeiro trimestre, a concentração de PLGF está diminuída em gestações que evoluirão com PE e CIUR, enquanto os níveis de sFlt-1 não diferem dos controles. As concentrações de sFlt-1 estão aumentadas em 9 a 11 semanas antes do aparecimento da fase clínica da PE (LEVINE *et al.*, 2004; MAYNARD *et al.*, 2003; KOGA *et al.*, 2003; TAYLOR *et al.*, 2003; SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005).

Os resultados do estudo de Levine *et al.* (2004) sugerem que a concentração de sFlt-1 começa a aumentar cerca de cinco semanas antes do aparecimento clínico da PE. Paralelamente ao aumento do sFlt-1, ocorre redução nos níveis de VEGF e PLGF livres, sugerindo que a diminuição destes fatores pode ser atribuído em parte pela ligação ao sFlt-1. Nesse estudo, as alterações nos níveis de sFlt-1 e PLGF antes do aparecimento clínico da PE foram mais pronunciadas nas pacientes que desenvolveram PE precoce e nas que tiveram bebês pequenos para a idade

gestacional, sugerindo que a alteração na angiogênese pode ser especialmente importante nesses casos (LEVINE *et al.*, 2004).

No estudo realizado por Moore Simas *et al.* (2007) em mulheres com alto risco de desenvolver PE, o sFlt-1 e o índice sFlt-1/PLGF estavam alterados antes do aparecimento clínico da PE, podendo ser considerados fatores de predição da doença. O valor médio do sFlt-1 e o índice sFlt-1/PLGF foram mais altos nas mulheres que desenvolveram PE precoce (antes de 34 semanas de gestação), quando comparados com as mulheres saudáveis, após 22 semanas de gestação. Entre as mulheres que desenvolveram PE tardia (após 34 semanas de gestação), o sFlt-1 estava significativamente aumentado após 31 semanas de gestação. O índice sFlt-1/PLGF entre 22 e 26 semanas de gestação foi altamente preditivo de desenvolvimento de PE precoce. O índice sFlt-1/PLGF foi mais preditivo no desenvolvimento de PE quando comparado com os fatores isoladamente (MOORE SIMAS *et al.*, 2007)

As mudanças nos fatores de angiogênese (PLGF e sFlt-1) ligados à PE são mais acentuadas na doença grave. As mulheres que desenvolvem PE leve não diferem muito das mulheres controles no que diz respeito à dosagem de sFlt-1 entre 21 e 32 semanas de gestação; enquanto as mulheres com PE grave apresentam valores significativamente diferentes dos controles. No estudo realizado por Ness e Hubel (2005) o sFlt-1 e o PLGF se mostraram significativamente diferentes em mulheres com PE grave e precoce e em mulheres com PE leve e tardia (NESS; HUBEL, 2005).

MAYNARD *et al.* (2003) também mostraram que o sFlt derivado da placenta (sFlt-1) sofre up-regulação na PE, levando a aumento sistêmico do sFlt-1 que cai após o parto. O aumento da concentração de sFlt-1 circulante na PE está associado com diminuição da concentração de VEGF e PLGF livres, resultando em disfunção endotelial. A magnitude do aumento do sFlt também foi correlacionado com a gravidade da doença, fortalecendo a teoria de que o balanço de VEGF e sFlt-1 está intimamente implicado em um dos mecanismos fisiopatológicos da PE (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; MAYNARD *et al.*, 2003; BAUMWELL; KARUMANCHI, 2007; SHAH, 2005).

Embora o PLGF reduzido e o sFlt-1 aumentado reflitam a placentação anormal, podem também indicar função vascular materna anormal. Mulheres com

história de PE apresentam aumento de sFlt-1 e aumento da resistência à insulina mais de um ano pós-parto (NESS; HUBEL, 2005).

O sFlt-1 tem todos os atributos necessários para ser considerado um fator derivado do trofoblasto que provoca lesão endotelial materna. No entanto, ele não é o único causador de lesão endotelial, e não está aumentado em todas as pacientes que desenvolvem PE. O termo PE descreve uma síndrome, não uma doença, podendo englobar condições isoladas que se parecem clinicamente. A PE varia em suas formas de apresentação, características e evolução. Torna-se difícil acreditar que um único fator possa explicar a totalidade do espectro da PE. Existem também vários outros fatores que estão aumentados na PE e o seu papel na doença é ainda indefinido (REDMAN; SARGENT, 2005).

2.9 – Desafios futuros

Existem muitos desafios relacionados à predição, prevenção e condução da PE. Estudos futuros deverão fornecer novas informações sobre biomarcadores capazes de prever precocemente o aparecimento de PE grave, com o objetivo maior de reduzir a prevalência dessa doença, associada com prognóstico gestacional adverso (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005).

Os progressos nos próximos cinco anos provavelmente estarão concentrados na identificação de uma lista de genes susceptíveis e no avanço do conhecimento sobre os fatores angiogênicos e seus receptores, além do conhecimento sobre a interação imune materno-fetal alterada. Finalmente, é necessária a realização de estudos randomizados para testar novas intervenções capazes de prevenir casos de PE associados com prognóstico materno-fetal adverso (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005).

Como nem o estudo Doppler nem a análise do soro materno se mostraram bons preditores de PE a ponto de permitirem seu uso na prática clínica, muitos investigadores têm procurado melhorar o valor preditivo usando uma combinação do estudo Doppler com diferentes análises de marcadores no soro materno, além de características clínicas, com resultados variados (ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010;

NICOLAIDES *et al.*, 2006; BANZOLA *et al.*, 2007; BAUMANN *et al.*, 2008; PLASENCIA *et al.*, 2008; SPENCER; COWANS; STAMATOPOULOU, 2008; POON *et al.*, 2009).

O uso de múltiplos parâmetros aumenta a sensibilidade e a especificidade do *screening* possivelmente porque eles refletem diferentes mecanismos do processo da doença. O Doppler anormal reflete a invasão trofoblástica inadequada nas artérias espiraladas e os marcadores de angiogênese demonstram a atividade secretória alterada dos trofoblastos (ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010; SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005; AKOLEKAR *et al.*, 2008).

A rápida expansão do uso de marcadores bioquímicos nos fornece a possibilidade de predição da PE. No entanto, a maioria dos marcadores bioquímicos não preenche critérios para um bom teste de rastreamento, pela baixa sensibilidade e alto índice de falso positivo. Além disso, nenhum marcador bioquímico foi testado em estudo prospectivo com poder adequado para assegurar sua eficácia. Além disso, a maioria dos ensaios disponíveis é relativamente cara, o que limita o seu uso na prática clínica (FAYYAD; HARRINGTON, 2005).

Como a etiologia da PE é multifatorial, a associação de múltiplos marcadores para teste de rastreamento pode se mostrar mais sensível e com um índice de falso positivo menor, comparado com um teste de rastreamento realizado com um único marcador bioquímico (FAYYAD; HARRINGTON, 2005). Os testes de rastreamento combinados são mais efetivos em predizer PE precoce, em relação à PE tardia.(ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010; CRISPI *et al.*, 2008; POON *et al.*, 2009).

3 – OBJETIVOS

3.1 – Objetivo Principal

Verificar se existe correlação entre dois marcadores bioquímicos de lesão endotelial, o PLGF e o sFlt-1, e um marcador biofísico, a dilatação fluxo mediada (FMD) da artéria braquial, em gestantes normotensas e em gestantes com diagnóstico de pré-eclampsia.

3.2 – Objetivo Secundário

Estudar e comparar o comportamento dos três marcadores de lesão endotelial descritos acima no grupo de pacientes com e sem pré-eclampsia

4 – PACIENTES E MÉTODOS

4.1 – Pacientes

No período de março de 2008 a março de 2010, realizou-se estudo transversal no qual foram acompanhadas 80 gestantes admitidas na Maternidade do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Destas gestantes, 28 eram híidas e 52 apresentaram diagnóstico de pré-eclampsia (TAB. 1). O diagnóstico foi baseado nos critérios do *National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure In Pregnancy* (2000), adotado no protocolo de assistência a pacientes com quadros hipertensivos da Maternidade.

TABELA 1 – Distribuição das pacientes nos dois grupos no momento de inclusão no estudo

Grupos	Frequência	Percentual
Controle	28	35
Pré-eclampsia	52	65
Total	80	100

Fonte: Dados da pesquisa

Nota: n=80

O estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP-UFMG), pelo Colegiado de Pós-Graduação em Saúde da Mulher e pela Câmara Departamental do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFMG, tendo sido respeitado os princípios para pesquisa em seres humanos (ANEXO A).

As pacientes foram informadas sobre o protocolo de pesquisa e, depois de esclarecidas, assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE A).

Em todos os casos a idade gestacional foi determinada pela data da última menstruação e confirmada por ultra-sonografia realizada previamente à 20ª semana de gestação. Nos casos em que houve erro de data, as idades gestacionais foram calculadas pela primeira ultra-sonografia.

Os grupos foram pareados quanto à idade materna, idade gestacional e paridade.

4.1.1 – Critérios de inclusão

O grupo controle foi constituído por 28 gestantes saudáveis, com feto único sem anormalidades à ultra-sonografia, e sem intercorrências durante todo o pré-natal e parto, até o momento de inclusão no estudo.

O grupo das gestantes com pré-eclampsia foi constituído por 52 mulheres, apresentando quadro de elevação da pressão arterial sistêmica (PA \geq 140x90mmHg em duas medidas, com intervalo de seis horas entre elas), associada à presença de proteinúria (1+ ou mais na medida de proteinúria de fita ou proteinúria de 24 horas $>0,3g/24$ horas), após a 20^a semana de gestação, de acordo com os critérios definidos pelo NHBPEPWG (2000).

4.1.2 – Critérios de exclusão

Foram excluídas do estudo as pacientes portadoras de co-morbidades como hipertensão arterial sistêmica crônica, *diabetes mellitus*, doença renal, doença coronariana e doenças infecciosas. As gestações gemelares com fetos malformados ou com alteração do crescimento fetal também foram excluídas, assim como as pacientes tabagistas, usuárias de drogas e medicamentos a base de nitrito. Estas são situações sabidamente associadas à lesão endotelial (CARMELIET, 2003).

4.1.3 – Características gerais do grupo de estudo

Nas TAB. 2, 3 e 4 as pacientes foram caracterizadas quanto à idade materna, idade gestacional e história obstétrica. A média de idade das pacientes foi de 28,3 anos, com desvio-padrão de 7,2 anos. A maioria das pacientes (76,3%) foi incluída no estudo antes do termo da gestação, ou seja, antes de completarem 37 semanas de gestação. 47% das pacientes apresentavam idade gestacional menor que 34 semanas na época de inclusão no estudo. As primigestas eram 53,7%, sendo que

82,5% não apresentavam história de abortamento anterior. Apenas 2 pacientes (2,5%) apresentaram história de abortamento de repetição.

TABELA 2 – Caracterização das pacientes quanto à idade materna (em anos)

Parâmetro	Média	Min-Máx	Desvio-padrão
Idade Materna	28,3	14 – 44	7,2

Fonte: Dados da pesquisa

Nota: n=80

TABELA 3 – Caracterização das pacientes quanto à idade gestacional

Idade Gestacional	Frequência	Percentual
< 34 semanas	47	58,8
34 – 36 semanas	14	17,5
≥ 37 semanas	19	23,7
Total	80	100,0

Fonte: Dados da pesquisa

Nota: n=80

TABELA 4 – Caracterização das pacientes quanto à história obstétrica

Parâmetros	Frequência	Percentual
Gestações		
1 gestação	43	53,7
2-3 gestações	22	27,5
4 ou mais gestações	15	18,8
Partos		
0 partos	47	58,7
1 parto	12	15,0
2-3 partos	14	17,5
4 ou mais partos	7	8,8
Abortos		
0 aborto	66	82,5
1 aborto	12	15,0
2 ou mais abortos	2	2,5

Fonte: Dados da pesquisa

Nota: n=80

4.1.4 Características das pacientes do grupo com PE

Em relação à classificação da PE em precoce e tardia, 53,8% (28) foram classificadas como PE precoce (diagnosticada antes de 34 semanas de gestação). A maioria das pacientes apresentou critérios de gravidade (GRÁF. 1), tanto no grupo das pacientes com PE precoce quanto no grupo das pacientes com PE tardia.

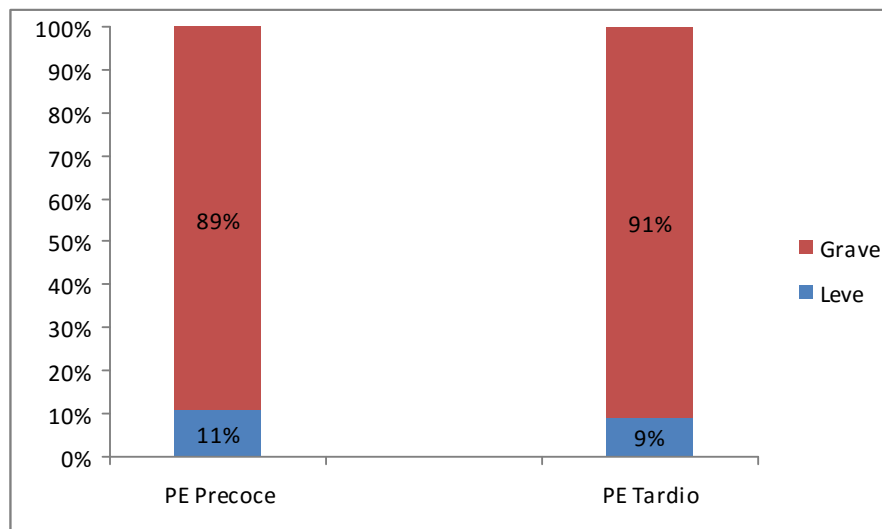


GRÁFICO 1 – Classificação das pacientes do grupo de PE em precoce/tardia e leve/grave
Fonte: Dados da Pesquisa

Em relação ao grupo das pacientes com diagnóstico de PE, apenas 25% apresentaram sintomas no momento de inclusão no estudo. O sintoma mais freqüente foi a presença de cefaléia isolada (61,5%), seguida por 15% das pacientes apresentando associação de cefaléia, alteração visual e epigastralgia. 8% das pacientes apresentaram cefaléia associada a alteração visual, 8% apresentaram cefaléia e epigastralgia e 8% epigastralgia isolada. Foi observada a presença de edema em 69,2% e hiperreflexia em apenas 15,4% das pacientes com PE no momento da inclusão no estudo. (TAB. 5 e GRÁF. 2).

TABELA 5 – Presença de sinais e sintomas nas pacientes do grupo com PE no momento de inclusão no estudo

PARÂMETRO	N(%)
Presença de Sintomas	
Sim	13 (25,0)
Não	34 (65,4)
Sem informação	5 (9,6)
Hiperreflexia	
Sim	8 (15,4)
Não	37 (71,1)
Sem informação	7 (13,5)
Edema	
Sim	36 (69,2)
Não	12 (23,1)
Sem informação	4 (7,7)

Fonte: Dados da Pesquisa

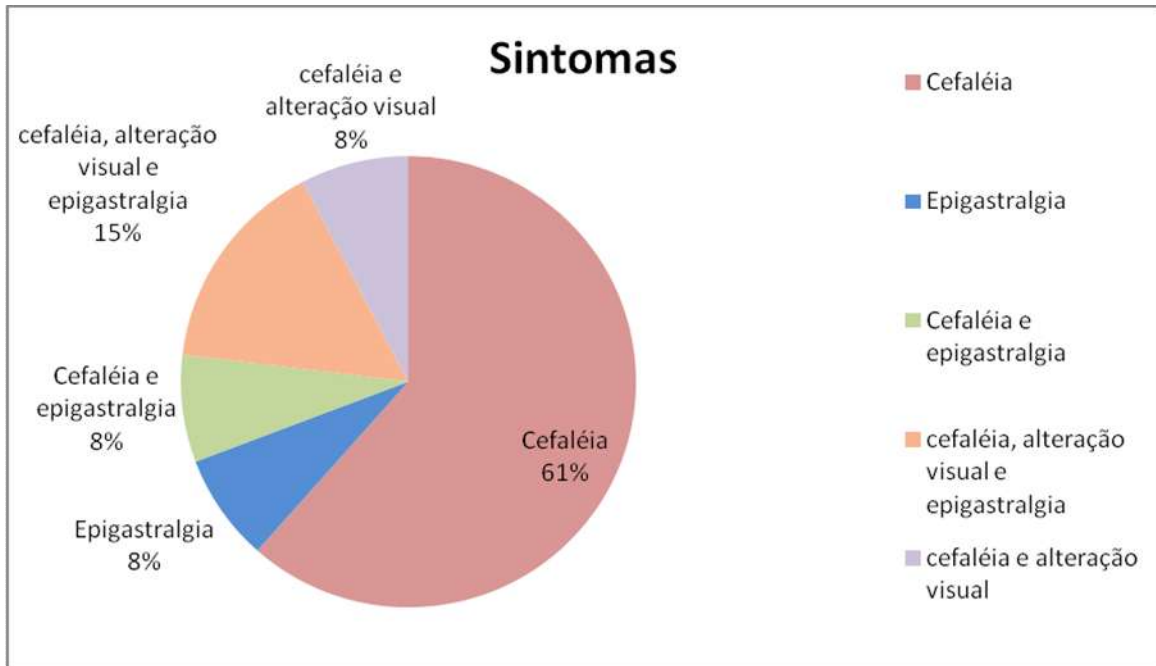


GRÁFICO 2 – Frequência dos sintomas apresentados pelos 25% de pacientes sintomáticas no grupo da PE

Fonte: Dados da Pesquisa

4.1.5 – Comparação das características gerais das pacientes dos dois grupos de estudo

Como já relatado anteriormente, as pacientes dos dois grupos foram pareadas em relação à idade materna, idade gestacional e paridade. As TAB. 6, 7 e 8 mostram que não houve diferença significativa destas características entre os grupos.

TABELA 6 – Comparação das pacientes dos dois grupos quanto à idade materna (anos)

Parâmetro	Grupo Controle (média ± desvio- padrão)	Grupo com PE (média ± desvio- padrão)	P
Idade Materna	29,04 ± 7,06	27,90 ± 7,38	0,508 ¹

Fonte: Dados da Pesquisa:

Nota: n=80; 1 Teste T

TABELA 7 – Comparação das pacientes dos dois grupos quanto à idade gestacional

Parâmetro	Grupo Controle N(%)	Grupo com PE N(%)	P
Idade Gestacional			0,194
< 34 semanas	19 (40,4)	28 (59,6)	
34-36 semanas	2 (14,3)	12 (85,7)	
≥ 37 semanas	7 (36,8)	12 (63,2)	

Fonte: Dados da Pesquisa

Nota: n=80. 1 Teste Qui-quadrado de Pearson assintótico

TABELA 8 – Comparação das pacientes dos dois grupos quanto à história obstétrica

Parâmetro	Grupo Controle	Grupo com PE	P
	N(%)	N(%)	
Gestações			0,234 ²
1 gestação	14 (32,6)	29 (67,4)	
2-3 gestações	6 (27,3)	16 (72,7)	
4 ou mais gestações	8 (53,3)	7 (46,7)	
Partos			0,346 ³
0	16 (34,0)	31 (66,0)	
1 parto	2 (16,7)	10 (83,3)	
2-3 partos	7 (50,0)	7 (50,0)	
4 ou mais partos	3 (42,9)	4 (57,1)	
Abortos			0,155 ²
0	23 (34,8)	43 (65,2)	
1 aborto	3 (25,0)	9 (75,0)	
2 ou mais abortos	2 (100,0)	0 (0,0)	

Fonte: Dados da Pesquisa

Nota: n=80; 2 Teste Qui-quadrado de Pearson Assintótico; 3 Teste Qui-quadrado de Pearson Exato

A TAB. 9 mostra a comparação entre as pressões arteriais sistólica, diastólica e pressão arterial média ($1/3$ da pressão arterial sistólica + $2/3$ da pressão arterial diastólica) entre os dois grupos durante o pré-natal e no momento de inclusão no estudo. A pressão arterial sistólica, diastólica e média de cada paciente no pré-natal representa a média de todas as pressões aferidas durante as consultas realizadas, e anotadas no cartão de pré-natal. Não houve diferença das pressões arteriais no pré-natal entre os dois grupos. Em relação às pressões arteriais no momento de inclusão no estudo, houve diferença significativa entre os dois grupos.

TABELA 9 – Comparação das pressões arteriais sistólica, diastólica e média entre os dois grupos durante o pré-natal e no momento de inclusão no estudo

Parâmetro	Grupo Controle	Grupo com PE	P
PA sistólica no pré-natal (média ± desvio-padrão)	110 mmHg (±20mmHg)	110mmHg (±20mmHg)	-
PA diastólica no pré-natal (média ± desvio-padrão)	70mmHg (±20mmHg)	70mmHg (±20mmHg)	-
PAM no pré-natal (mediana ± intervalo interquartil)	80mmHg (±20mmHg)	80mmHg (±20mmHg)	-
PA sistólica na inclusão (média ± desvio padrão)	110mmHg (±10mmHg)	160mmHg (±25mmHg)	0,000
PA diastólica na inclusão (média ± desvio padrão)	70mmHg (±10mmHg)	100mmHg (±10mmHg)	0,000
PAM na inclusão (mediana ± intervalo interquartil)	83,33mmHg (±6,66mmHg)	120mmHg (±16,67mmHg)	0,000

Fonte: Dados da Pesquisa
Nota: Teste Mann Whitney

A TAB. 10 compara as pacientes quanto à história progressiva de PE e prematuridade em gestações anteriores. Das pacientes com história de prematuridade anterior, quatro (80%) fazem parte do grupo com PE, embora não

tenha sido encontrada diferença significativa entre os dois grupos. Todas as pacientes com história de PE em gestação anterior (8) fazem parte do grupo de pacientes com PE, havendo diferença significativa deste parâmetro entre os dois grupos.

TABELA 10 – Comparação das pacientes dos dois grupos quanto à história de PE e prematuridade em gestações anteriores

Parâmetro	Grupo Controle N(%)	Grupo com PE N(%)	P
Prematuridade anterior			0,653 ³
Sim	1 (20,0)	4 (80,0)	
Não	25 (35,7)	45 (64,3)	
PE anterior			0,045 ³
Sim	0 (0,0)	8 (100,0)	
Não	27 (39,7)	41 (60,3)	

Fonte: Dados da Pesquisa

Nota: 3 Teste Qui-quadrado de Pearson Exato

Em relação à história familiar de pré-eclampsia (PE) e de hipertensão arterial crônica, não houve diferença significativa entre os grupos, embora 81,8% (9) das pacientes que apresentaram história familiar de PE estivessem no grupo das pacientes com PE (TAB. 11).

TABELA 11 – Comparação das pacientes dos dois grupos quanto à história familiar de PE e HAC

Parâmetro	Grupo Controle N(%)	Grupo com PE N(%)	P
História Familiar de PE			0,307 ³
Sim	2 (18,2)	9 (81,8)	
Não	23 (38,3)	37 (61,7)	
História Familiar de HAC			0,316 ²
Sim	14 (41,2)	20 (58,8)	
Não	12 (30,0)	28 (70,0)	

Fonte: Dados da Pesquisa

Nota: 3 Teste Qui-quadrado de Pearson Exato

4.2 – Metodologia

4.2.1 – Medida da pressão arterial e proteinúria

A medida da pressão arterial foi aferida empregando-se um esfigmomanômetro tipo coluna de mercúrio (marca BD) posicionado no braço esquerdo das pacientes, de acordo com o protocolo utilizado na maternidade. As pacientes foram colocadas assentadas em repouso por um período de pelo menos cinco minutos antes da aferição.

A determinação da pressão arterial sistólica e diastólica foi obtida pelo método auscultatório, por meio da identificação dos sons I e V de *Korotkoff*, respectivamente (NHBPEPWG, 2000). A pressão arterial média (PAM) foi calculada pela fórmula $PAM = 1/3 PA \text{ sistólica} + 2/3 PA \text{ diastólica}$, conforme Roberts (1999).

Nas pacientes em que foi identificado níveis pressóricos $\geq 140 \times 90$ mmHg, nova medida de pressão arterial foi obtida após um período de 6 horas. Foi colhida

pequena amostra de urina dessas pacientes para análise qualitativa de proteinúria com fita dosadora. Foi também realizada, em algumas pacientes, análise quantitativa da proteinúria por meio da coleta de urina por um período de 24 horas.

Conforme dito anteriormente, o diagnóstico de PE foi realizado de acordo com os critérios definidos pelo NHBPEPWG (2000). Segundo essa classificação, a pré-eclampsia é definida como elevação de pressão arterial sistêmica (níveis pressóricos $\geq 140 \times 90$ mmHg em duas medidas, com intervalo de seis horas entre elas), acompanhada pela presença de proteinúria (1+ ou mais na medida de proteinúria de fita ou proteinúria 24 horas $>0,3\text{g}/24\text{horas}$), após 20 semanas de gestação.

4.2.2 – Medida da Dilatação Fluxo Mediada da Artéria Braquial

A avaliação da dilatação fluxo mediada (FMD) da artéria braquial foi realizada empregando-se aparelho de ultra-sonografia com Doppler colorido *SONOACE® 8800 – Medson Co, Ltd*, com sonda linear de 4-8mHz.

As pacientes foram colocadas em repouso em decúbito dorsal, por 15 minutos, antes da realização do exame. Identificou-se a imagem da artéria braquial medialmente na fossa antecubital do membro superior dominante. Aproximadamente cinco centímetros acima do cotovelo do membro superior, foi realizado um corte longitudinal (modo B) durante o momento de menor distensão do vaso, que corresponde à diástole cardíaca, por meio do resgate de imagens pelo “*cine loop*” do equipamento. A imagem foi congelada para obtenção da média de três medidas do seu calibre (D1).

Após esta primeira aferição, o manguito do esfigmomanômetro posicionado proximalmente ao local da medida da artéria braquial, foi insuflado por 5 minutos até uma pressão superior a 250 mmHg e, posteriormente, desinsuflado vagarosamente. A média de três novas medidas do calibre do vaso foi obtida com a mesma técnica descrita anteriormente, após 1 minuto da desinsuflação do manguito (D2).

O valor do FMD foi obtido por meio do cálculo da seguinte fórmula: $\text{FMD (\%)} = [(D2 - D1)/D1] \times 100$, onde D1 = diâmetro basal e D2 = diâmetro pós-oclusão.

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

4.2.3 – Coleta de Sangue

Depois de serem submetidas ao exame de ultra-som para aferição da dilatação fluxo mediada, obteve-se de cada paciente uma amostra de 10 ml de sangue periférico, retirado da região da fossa antecubital do membro superior direito, após anti-sepsia realizada com álcool a 70%. O sangue foi colocado em tubo *Vacutainer* estéril contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) no momento da coleta e, logo após, transferidas para tubos do tipo *EPPENDORF*®. Seguiu-se o processo de centrifugação das amostras a 4000 rotações por minuto por 10 minutos. O plasma sobrenadante obtido neste processo foi pipetado com ponteiros descartáveis e transferido para novos tubos tipo *EPPENDORF*® identificados. Esses tubos foram armazenados em nitrogênio líquido a -80° no Laboratório do CEMEFE-HC-UFMG.

4.2.4 – Dosagem dos Fatores de Angiogênese PLGF e sFlt-1

A dosagem dos fatores de angiogênese foi realizada por técnica de ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), utilizando-se dois kits *Duoset* ELISA, sendo um kit contendo anticorpos específicos para a dosagem do sFlt-1 e o outro kit contendo anticorpos específicos para a dosagem do PLGF. Ambos os kits foram fabricados pela *R&D Systems*. Primeiramente realizou-se a dosagem do sFlt-1 e, em seguida, a dosagem do PLGF.

Cada ensaio de ELISA para dosagem dos fatores de angiogênese foi realizada em três dias consecutivos, com a mesma técnica para ambos os fatores de angiogênese.

4.2.4.1 – Sensibilização da placa de ELISA (1º Dia)

Em cada poço da microplaca estéril para ensaio de ELISA foi adicionado 100µl do Anticorpo de Captura específico fornecido pelo kit e preparado conforme protocolo do kit, criando-se uma superfície sólida de anticorpos.

Para o preparo do anticorpo de captura do sFlit-1e do PLGF, utilizou-se as soluções de estoque do kit - 720µg/mL de *mouse anti-human* VEGF R1 e 720µg/mL de *mouse anti-human* PLGF, respectivamente, ambas reconstituídas em 1.0mL de PBS. Após a reconstituição, essas soluções foram diluídas também em solução PBS até a concentração de 4.0µg/mL, conforme especificação do kit para utilização no ensaio.

A solução de PBS (*phosphate buffered saline*) supracitada consiste em uma solução preparada conforme especificações do kit, com 137mM NaCl, 2.7mM KCL, 8.1mM Na₂HPO₄, 1.5mM KH₂PO₄ em água deionizada, pH 7.2-7.4.

A placa foi vedada, colocada em caixa escura a 4°C e incubada *overnight*.

4.2.4.2 – Bloqueio/Adição de amostras, padrões e branco (2º Dia)

O conteúdo da placa foi desprezado e, a seguir, cada poço foi lavado com 300µL de Tampão de Lavagem por quatro vezes consecutivas, utilizando pipeta multicanal para remoção do excesso de anticorpos, conforme padronização da técnica.

O Tampão de lavagem (*R&D Systems Catalog # WA 126*) foi utilizado diluído 25 vezes em água deionizada.

Adicionou-se então em cada poço da placa 300µL de Tampão de Bloqueio, que consiste numa solução de alto peso molecular, para ocupar todos os “espaços” que sobraram. A finalidade do bloqueio é evitar que outras proteínas contidas no soro se fixem à placa no momento do teste. Se os anticorpos do soro teste se ligarem à placa, o resultado vai trazer uma alta titulação falsa.

O Tampão de Bloqueio foi preparado com Solução Reagente Diluente (*R&D Systems Catalog # DY995*) diluído em água deionizada 1:10.

A placa foi vedada, agitada e incubada por um período de uma a duas horas em temperatura ambiente.

O conteúdo da placa foi novamente desprezado e a placa foi submetida a um novo processo de lavagem, segundo padronização da técnica, já descrita anteriormente.

As amostras foram então descongeladas em gelo e centrifugadas a 10000rpm, a 4°C, por 15 minutos. As amostras para dosagem do PLGF foram utilizadas puras e em diluição de 1:3. As amostras para dosagem do sFlt-1 foram utilizadas puras e em diluições de 1:2, 1:3, 1:10 e 1:20.

Para a construção da Curva Padrão do ensaio de ELISA, o Padrão fornecido no kit foi diluído sucessivamente de uma concentração máxima de 10000pg/mL até uma concentração mínima de 9,75pg/mL para o sFlt-1, e de uma concentração máxima de 2000pg/mL até uma concentração mínima de 7,8pg/mL para o PLGF.

A diluição das amostras e dos Padrões foi realizada com Reagente Diluente (*R&D Systems Catalog # DY995*) diluída a 1:100 com PBS.

- Para que o teste de ELISA se torne quantitativo, é necessária a construção de uma curva com os valores de densidade ótica obtida a partir da reação de Padrões com concentrações conhecidas do antígeno a ser dosado, fornecidas pelo kit. A curva serve como padrão de comparação para deduzir as quantidades de antígenos nas soluções-teste.

Foram, então, pipetados 100µL/poço do Branco (água deionizada), dos Padrões diluídos sucessivamente para a obtenção da curva, e das amostras das pacientes, em duplicata. A placa foi vedada e incubada *overnight* a 4°C. A finalidade do Branco é a de verificar a quantidade de impurezas.

4.2.4.3 – Detecção e Revelação (3º Dia)

O conteúdo da placa foi, novamente, desprezado, e a placa foi submetida a novo processo de lavagem, segundo padronização da técnica já descrita anteriormente.

Em cada poço da microplaca foi adicionado 100µl do Anticorpo de Detecção específico fornecido no kit e preparado conforme protocolo do kit. A placa foi vedada, agitada e incubada por 1 hora. Nesta etapa, o Anticorpo de Detecção se liga ao complexo Anticorpo de Captura-Antígeno da Amostra, finalizando o chamado “sanduíche” de ELISA.

Para o preparo do Anticorpo de Detecção do sFlit-1e do PLGF, utilizou-se as soluções fornecidas pelo kit - 72µg/mL de *biotinylated goat anti-human VEGF R1* e 10,8µg/mL de *biotinylated goat anti-human PLGF*, respectivamente, ambas reconstituídas em 1.0mL de Reagente Diluente (*R&D Systems Catalog # DY995*). Após a reconstituição, essas soluções foram diluídas também em solução de Reagente Diluente, até a concentração de 400ng/mL para o sFlit-1 e 60ng/mL para o PLGF, conforme especificação do kit, para utilização no ensaio.

O conteúdo da placa foi novamente desprezado, sendo submetida a um novo processo de lavagem, segundo padronização da técnica, descrita anteriormente.

Adicionou-se em cada poço da placa 100 µL da enzima estreptavidina. A placa foi agitada, incubada por 20 minutos em temperatura ambiente e, novamente, lavada com Tampão de Lavagem, segundo protocolo da técnica. Finalmente, adicionou-se 100µL/poço da Solução Substrato. A placa foi incubada por 20 minutos em temperatura ambiente, observando-se o aparecimento da cor amarelada na placa. A reação foi paralizada com 50 µL/poço de Solução de Parada.

A Solução Substrato e a Solução de Parada utilizadas foram fornecidas pela *R&D Systems*. (*Catalog # DY999* e *# DY994*, respectivamente).

Foi realizada a observação em leitor de microplaca de ELISA, em absorbância, num comprimento de onda de 492nm. A conversão de absorbância para a concentração em pg/mL foi realizada com o programa de estatística *GraphPad Prism 5*. As curvas padrão do ensaio de sFlit e do PLGF tiveram correlação de 0,996 e 0,989, respectivamente.

4.2.5 – Análise Estatística

A análise estatística foi realizada no SPSS v. 13.0. A caracterização das pacientes foi realizada por meio de tabelas de freqüências absoluta e relativa (%). Na análise descritiva das variáveis do estudo, foram utilizados gráficos *Box-plot*, de barras e o de setores.

Na comparação das variáveis categóricas entre as pacientes do grupo controle e do grupo com pré-eclampsia, foram realizados os testes Qui-Quadrado de Pearson assintótico (20% das caselas tiveram valor esperado entre 1 e 5 e 80% das caselas tiveram valor esperado maiores ou iguais a 5) e Qui-Quadrado de Pearson exato (mais que 20% das caselas tiveram valores esperados entre 1 e 5).

Na comparação das variáveis quantitativas, foi realizado, inicialmente, o teste Shapiro Wilk para avaliar a normalidade. Para variáveis com distribuição normal, realizou-se o Teste t para comparação das médias dessas variáveis. Para variáveis sem distribuição normal, foi realizado o Teste de Mann Whitney. O nível de significância foi de 0,05, isto é, houve diferença significativa entre os grupos se o valor $p \leq 0,05$.

Na análise de correlação dos marcadores de angiogenese, utilizou-se o teste de Correlação de Spearman (variáveis não tem distribuição normal) que foi descrita por meio do gráfico de dispersão. A correlação varia de -1 a +1. Quanto mais próximo de +1 a correlação é forte e positiva; e quanto mais próximo de -1 a correlação é forte e negativa. Se a correlação for próxima de 0 não há correlação. Se o valor- $p > 0,05$ não há correlação entre os marcadores, caso contrário há correlação. O nível de significância de 0,05 foi usado para os testes de comparação entre os grupos e para a análise de correlação.

5 – RESULTADOS

5-1 – Comportamento da Dilatação Fluxo Mediada (FMD) da Artéria Braquial nos Dois Grupos

Das 80 pacientes estudadas, 74 foram submetidas a exame de ultra-som para análise da Dilatação Fluxo Mediada da Artéria Braquial. A TAB.12 mostra o comportamento deste marcador de lesão endotelial nos dois grupos. A mediana da FMD no grupo com PE foi significativamente menor que a mediana no grupo controle (5,40 x 16,13). O GRAF. 3 é a representação desta variável em *Box-plot*.

TABELA 12 – Comportamento da dilatação fluxo mediada (FMD) da artéria braquial nos dois grupos de estudo

FMD	GRUPO CONTROLE	GRUPO COM PE	P
Mediana	16,13	5,4	0,000
Q1	12,13	0	
Q3	21,54	8,82	
Valor Máximo	35,71	23,33	
Valor Mínimo	2,86	0,00	

Fonte: Dados da Pesquisa

Nota: Teste de Mann Whitney

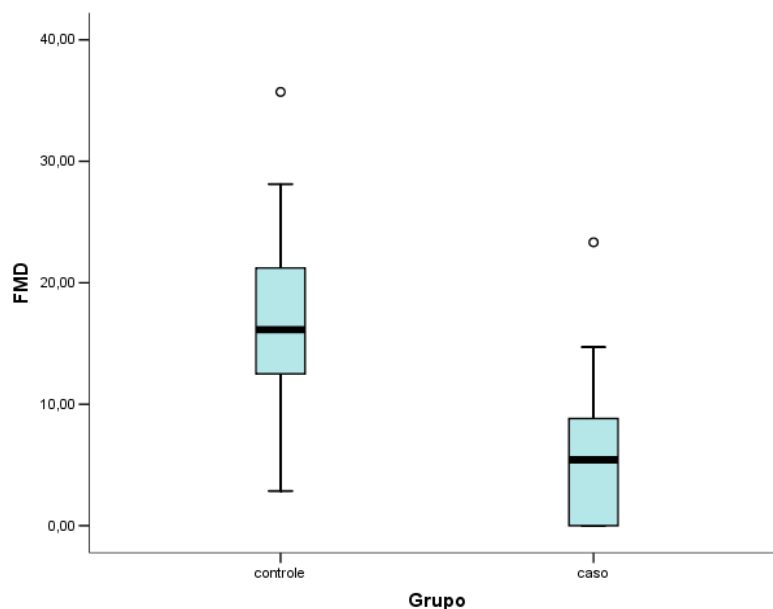


GRÁFICO 3 – Representação em Box-Plot do comportamento da dilatação Fluxo Mediada da Artéria Braquial nos dois Grupos de Estudo
 Fonte: Dados da Pesquisa

5.2 – Comportamento do sFlt-1 nos dois Grupos Estudados

Foi realizada dosagem sérica do sFlt-1 em 62 das 80 pacientes estudadas. Duas pacientes se recusaram a colher amostra de sangue para o estudo, 11 *ependorfs* com sangue colhido foram perdidos durante o estudo e em 5 pacientes não se obteve resultado compatível com a curva padrão obtida. A TAB.13 mostra o comportamento deste marcador de lesão endotelial nos dois grupos. A mediana do sFlt-1 no grupo com PE foi significativamente maior que a mediana no grupo controle (44,91ng/mL x 22,25ng/mL). Houve grande variabilidade nos dois grupos. O GRAF. 4 é a representação desta variável em *Box-plot*.

TABELA 13 – Comportamento da concentração sérica do sFlt-1 nos dois grupos de estudo

sFlt-1 (ng/mL)	GRUPO CONTROLE	GRUPO COM PE	P
Mediana	22,25	44,91	0,001
Q1	8,15	22,59	
Q3	31,83	73,50	
Valor Máximo	56,95	120,24	
Valor Mínimo	4,00	2,18	

Fonte: Dados da Pesquisa

Nota: Teste de Mann Whitney

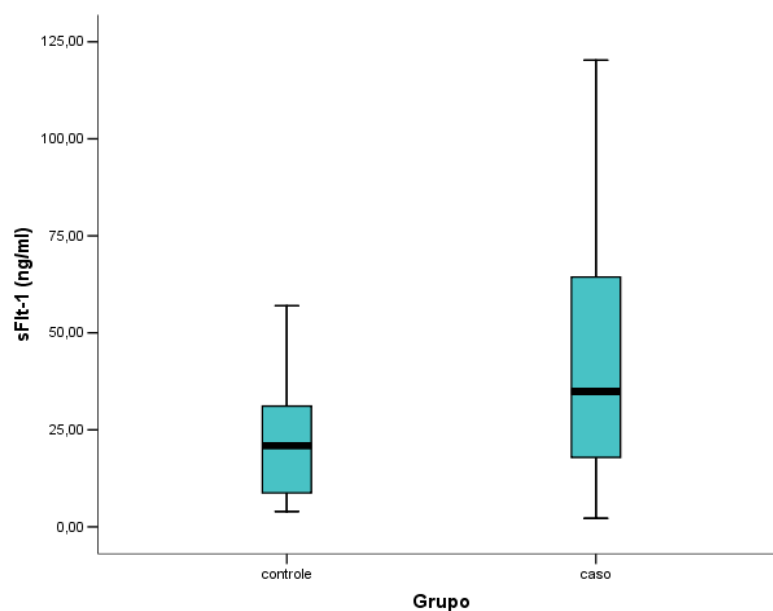


GRÁFICO 4 – Representação em Box-Plot do comportamento da Concentração Sérica do sFlt-1 nos dois Grupos de Estudo

Fonte: Dados da Pesquisa

5.3 - Comportamento do PLGF nos dois Grupos Estudados

Foi realizada dosagem sérica do PLGF em 67 das 80 pacientes estudadas. Houve perda de 11 *ependorfs* de sangue colhido durante o estudo, e duas pacientes se recusaram a colher sangue para o estudo. Além destas 13 perdas, retiramos 12 resultados de outliers, totalizando uma perda de 25 amostras. A análise final deste marcador foi realizada com 55 resultados. A TAB.14 mostra o comportamento deste marcador de lesão endotelial nos dois grupos. A mediana do PLGF no grupo com PE foi menor que a mediana no grupo controle (101,76 pg/mL x 122,7pg/mL), porém não houve diferença significativa entre os grupos ($p>0,05$). O GRAF. 5 é a representação desta variável em *Box-plot*.

TABELA 14 – Comportamento da concentração sérica do PLGF nos dois grupos de estudo

PLGF (pg/mL)	GRUPO CONTROLE	GRUPO COM PE	P
Mediana	122,74	101,76	0,274
Q1	58,66	45,48	
Q3	500,31	197,37	
Valor Máximo	728,94	762,22	
Valor Mínimo	8,17	3,51	

Fonte: Dados da Pesquisa

Nota: Teste de Mann Whitney

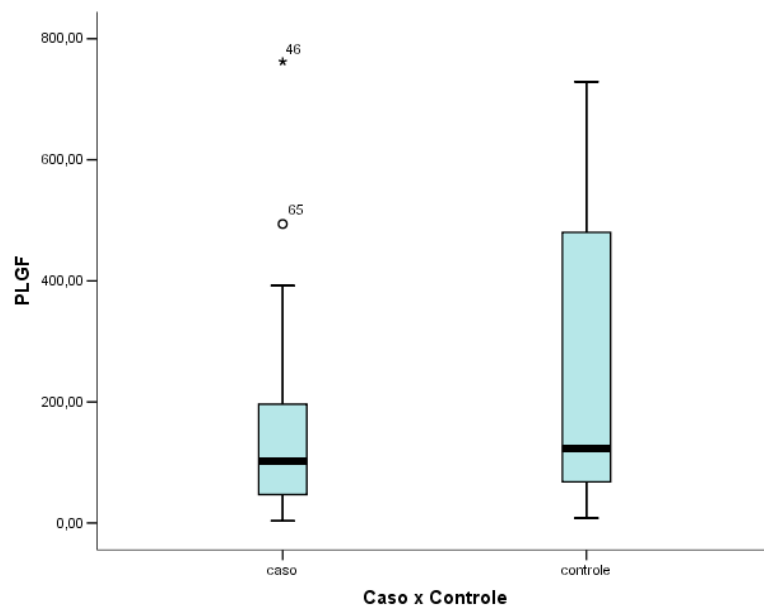


GRÁFICO 5 – Representação em Box-Plot do comportamento da Concentração Sérica do PLGF nos dois Grupos De Estudo

Fonte: Dados da Pesquisa

5.4 – Comportamento da razão sFlt-1/PLGF nos dois grupos estudados

Foi possível realizar a razão sFlt-1/PLGF em 53 das 80 pacientes estudadas. A TAB.15 mostra que a mediana desta razão foi, no grupo controle, significativamente menor que a mediana no grupo com PE (50,89 x 187,21). O GRAF. 6 é a representação desta variável *em Box-plot*.

TABELA 15 – Comportamento da razão sFlt-1/PLGF nos dois grupos de estudo

sFlt-1/PLGF	GRUPO CONTROLE	GRUPO COM PE	P
Mediana	50,89	187,21	0,041
Q1	25,20	40,88	
Q3	123,31	402,35	
Valor Máximo	770,41	843,46	
Valor Mínimo	8,56	10,89	

Fonte: Dados da Pesquisa

Nota: Teste de Mann Whitney

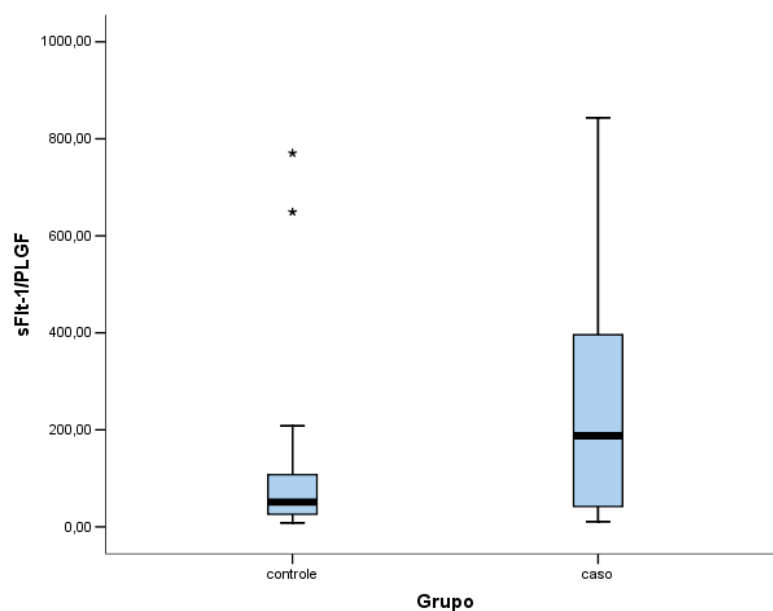


GRÁFICO 6 – Representação em Box-Plot do comportamento da razão sFlt-1/PLGF nos dois Grupos de Estudo

Fonte: Dados da Pesquisa

5.5 – Análise da Correlação entre os Marcadores de Angiogênese Estudados

Na análise de correlação dos marcadores de angiogenese foi utilizado o teste de Correlação de Spearman. Não foi encontrada correlação significativa entre os marcadores de angiogênese, o que pode ser visualizado através dos gráficos de dispersão abaixo (GRAF. 7,8,9 e 10). A correlação de Spearman entre FMD e sFit-1 foi 0,037 ($p=0,823$). A correlação de Spearman entre sFit-1 e PLGF foi de -0,178 ($p=0,306$). Não há correlação entre FMD e PLGF ($p=0,999$). A correlação de Spearman entre a FMD e a razão sFit-1/PLGF foi de 0,007 ($p=0,970$).

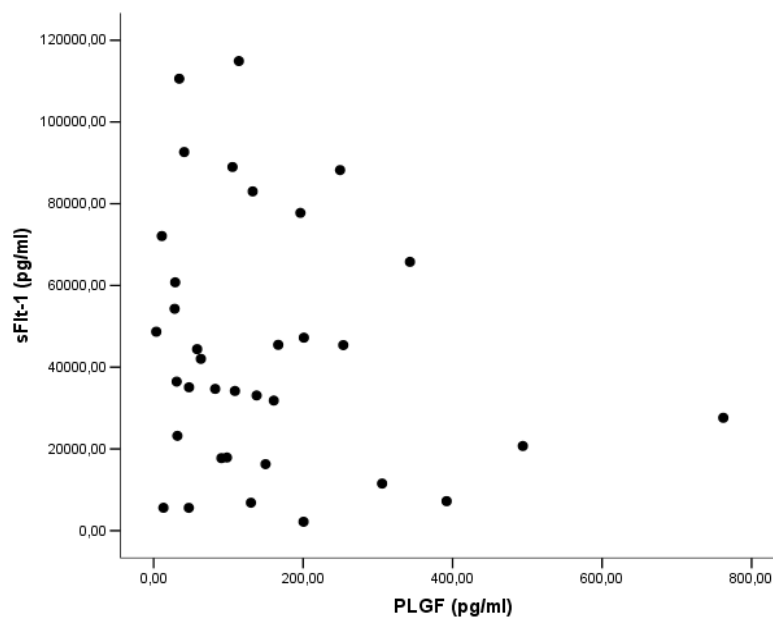


GRÁFICO 7 – Correlação de Spearman entre o sFit-1 e o PLGF
Fonte: Dados da Pesquisa

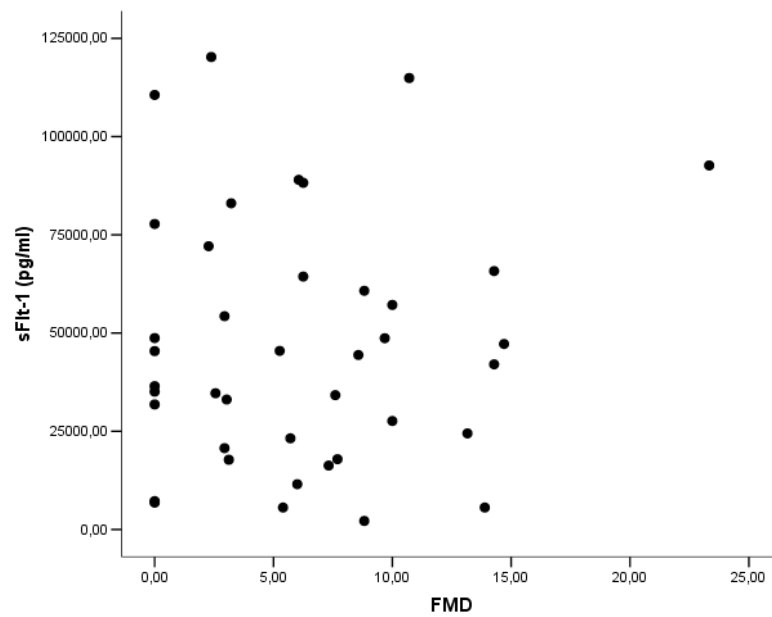


GRÁFICO 8 – Correlação de Spearman entre o sFit-1 e a FMD da Artéria Braquial
Fonte: Dados da Pesquisa

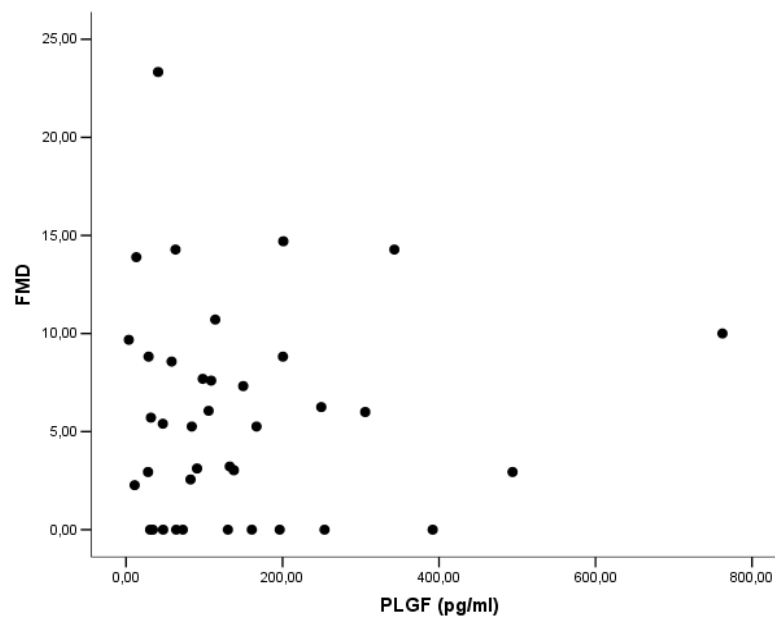


GRÁFICO 9 – Correlação de Spearman entre o PLGF e a FMD da Artéria Braquial
Fonte: Dados da Pesquisa

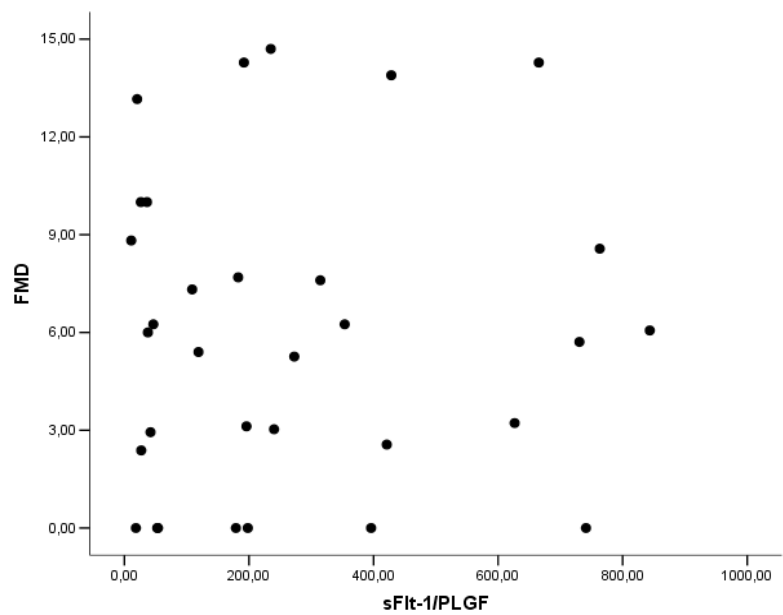


GRÁFICO 10 – Correlação de Spearman entre a FMD da Artéria Braquial e a razão sFit-1/PLGF

Fonte: Dados da Pesquisa

6 – DISCUSSÃO

A pré-eclampsia permanece ao longo dos anos como uma doença desafiadora em que, apesar do grande número de estudos e pesquisas, muitas dúvidas permanecem. Continua sendo uma doença com alta morbi-mortalidade para o binômio mãe-feto, principalmente em países em desenvolvimento, como o Brasil, onde suas conseqüências são devastadoras. Ainda é considerada a principal causa de mortalidade perinatal, prematuridade e restrição de crescimento intra-uterino. O fato de se constituir em uma doença multissistêmica e multifatorial de manifestação tardia e com instalação em fases precoces da gestação, dificulta a compreensão precisa de sua etiologia e dos vários mecanismos fisiopatológicos que levam ao quadro de PE, restringindo progressos no que diz respeito à predição e prevenção da doença.

A possibilidade de se utilizar técnicas de prevenção da PE revolucionaria o acompanhamento pré-natal e salvaria muitas vidas de fetos e gestantes. A prevenção primária, ou seja, aquela que protege contra a doença, só será concretizada com a descoberta definitiva de sua etiologia e de técnicas que permitam o desenvolvimento normal da gestação. As intervenções propostas ainda são focadas no início do aparecimento dos sintomas, enquanto a fisiopatologia da doença já se instalou bem antes.

Um desequilíbrio nos fatores angiogênicos e antiangiogênicos circulantes, derivados de uma placentação inadequada em fases precoces da gestação, está emergindo como um mecanismo proeminente na mediação da disfunção endotelial e no aparecimento dos sinais e sintomas da PE em fases mais tardias da gestação. A condição está associada com produção reduzida de proteínas pró-angiogênicas, como o PLGF, além de aumento dos fatores anti-angiogênicos, como o sFlt-1.

Está bem consolidado que a lesão endotelial é um ponto inquestionável da fisiopatologia da doença. O estudo Doppler das artérias uterinas tem sido foco para predição da PE no segundo trimestre da gestação, revelando alterações de fluxo em um vaso já lesado por este desequilíbrio dos fatores de angiogênese. A metodologia usada para análise dos índices da onda do Doppler das artérias uterinas varia entre os autores, havendo dúvidas quanto à sua utilidade como preditor de PE pelo fato

deste exame ser realizado na 26ª semana de gestação, quando os quadros graves já levaram ao comprometimento materno/fetal.

Os estudos que abordam os marcadores de angiogênese, como o PLGF e o sFlt-1, dentre vários outros marcadores já descobertos, são importantes para ampliar nossos conhecimentos acerca desta etapa precoce de instalação da doença. Isso é importante não só com o objetivo de predição, mas também para a descoberta de fármacos capazes de bloquear o aparecimento da doença e de suas formas graves já na fase precoce, por meio da obtenção do equilíbrio dos fatores angiogênicos/anti-angiogênicos.

A dilatação fluxo mediada (FMD) da artéria braquial é um teste bem estabelecido de avaliação da função endotelial. A técnica é atrativa porque é não invasiva, tem relativo baixo custo e permite várias aferições. Muito usada por cardiologistas para determinar lesão endotelial das artérias coronárias, está começando a ser utilizada em ginecologia e obstetrícia. O pequeno número de estudos já realizados demonstra que a FMD da artéria braquial é capaz de revelar a presença de lesão endotelial. Embora a técnica ainda não esteja totalmente padronizada, estudos da FMD são importantes não só por apontarem que a lesão endotelial é ponto central na fisiopatologia da PE, como também para sua predição e, no futuro, para acompanhamento do tratamento.

Uma das linhas de pesquisas desenvolvida no Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais enfoca o estudo da pré-eclampsia. A pesquisa pioneira sobre marcadores bioquímicos de angiogênese neste serviço foi realizado em 2006, sobre o PLGF e o VEGF em gestantes normotensas e com pré-eclampsia. Após este estudo, vários outros têm sido desenvolvidos no serviço, incluindo estes e outros marcadores de lesão endotelial. O estudo sobre a dilatação fluxo mediada da artéria braquial também é recente no serviço, obtendo-se promissores resultados.

As 80 gestantes selecionadas para participar deste estudo originaram-se da demanda espontânea de pacientes admitidas na Maternidade do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. No período de dois anos, foram captadas 52 pacientes com PE e 28 pacientes hípidas. A prevalência de pacientes com alguma doença na maternidade do HC/UFMG é alta, devido a maternidade ser de referência em gestação de alto risco. Por isso, a inserção de pacientes hípidas

que preenchessem os critérios de inclusão do estudo foi a primeira dificuldade encontrada. Como os grupos foram estatisticamente homogêneos em sua caracterização, não houve comprometimento em sua análise final.

Os marcadores PLGF e sFlt-1 foram escolhidos para estudo comparativo entre as gestantes normotensas e as gestantes com pré-eclampsia por sua estreita relação com a angiogênese placentária, segundo dados da literatura. A escolha da técnica de dosagem dos marcadores por ensaio de ELISA foi baseada na possibilidade de comparabilidade dos resultados do estudo com os estudos mais recentes obtidos na literatura.

A dosagem dos marcadores foi realizada pela primeira vez no Laboratório do Centro de Medicina Fetal-HC-UFMG, já que as avaliações nos estudos anteriores eram feitas no Laboratório de Angiogênese no ICB/UFMG. Os kits para dosagem dos marcadores ainda não são produzidos no Brasil, e, pelo seu alto custo, só são utilizados em nível de pesquisa. Foram adquiridos os kits *Duoset* para ambos os marcadores, da *R&D Systems*. A técnica recebeu treinamento no Laboratório de Angiogênese do ICB, onde também foram preparadas substâncias utilizadas no ensaio. A dosagem do sFlt-1 foi particularmente mais difícil que a do PLGF, embora a técnica de ELISA seja igual para qualquer marcador. Foram necessários vários ensaios até que se obtivesse uma curva padrão satisfatória e diluição de amostras que fossem compatíveis com a curva.

Os kits *Duoset* da *R&D Systems* contêm os componentes básicos necessários para se realizar um imunoenensaio, oferecendo uma alternativa econômica para a compra de anticorpos e proteínas separadas. Os novos kits *Quantikine*, disponibilizados pela *R&D Systems*, são completos e prontos para uso. Suas placas já vêm sensibilizadas com o anticorpo de captura, tornando o imunoenensaio mais fácil de ser executado. Apesar de mais caros, talvez deveriam ser utilizados nos próximos estudos em nosso serviço.

O resultado das concentrações de PLGF já foi obtido em pg/ml diretamente do leitor de microplaca de ELISA. Para o sFlt-1, foi necessário programa estatístico (*GraphPad Prism 5*) para transformação do resultado emitido em absorbância para concentração em ng/ml, exatamente pela dificuldade encontrada em se obter uma curva padrão satisfatória.

Das 80 pacientes, foram analisados 62 resultados de sFlt-1 (22,5% de perdas) e 55 resultados de PLGF (31,25% de perdas). A razão sFlt-1/PLGF foi possível em 53 pacientes (33,75% de perdas). Em 11 casos, os *appendorfs* contendo amostras de soro das pacientes foram perdidos durante os dois anos de estudo. Duas das pacientes selecionadas se recusaram a colher amostra de sangue para o estudo. Em 5 casos, os resultados de sFlt-1 não foram compatíveis com a curva padrão obtida, sendo descartados, e 12 resultados *outliers* foram retirados da análise do PLGF. Estas perdas podem ter interferido nos resultados finais do trabalho, principalmente no que diz respeito ao que foi obtido para o PLGF.

Vários estudos têm demonstrado que durante a fase clínica da doença a concentração materna de PLGF está reduzida e esta redução precede o aparecimento clínico da doença, sendo evidente no segundo e primeiro trimestre de gestação (SAVVIDOU *et al.*, 2008; BAUMWELL; KARUMANCHI, 2007; AKOLEKAR *et al.*, 2008; MASUYAMA *et al.*, 2006; CRISPI *et al.*, 2006; CRISPI *et al.*, 2008; OHKUCHI *et al.*, 2007; TEIXEIRA *et al.*, 2008; EREZ *et al.*, 2008; FAYAD 2005; NESS; HUBEL, 2005; ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010).

Estudos mais recentes têm sido unânimes em mostrar que gestantes com PE apresentam níveis séricos elevados de sFlt-1 e níveis séricos reduzidos de PLGF (KOGA *et al.*, 2003; LEVINE *et al.*, 2004; MOORE SIMAS *et al.*, 2007; DIAB *et al.*, 2008; PURWOSUNU *et al.*, 2009).

Em um estudo realizado no HC/UFMG, a concentração plasmática de PLGF estava significativamente reduzida nas pacientes com PE em relação às gestantes normotensas. Os autores encontraram relação inversa entre os níveis plasmáticos de PLGF e a pressão arterial média (PAM). Para cada diminuição de 1pg/ml na concentração de PLGF, houve aumento de 6,5mmHg na PAM ($p < 0,005$). Nesse estudo, as concentrações plasmáticas de VEGF não se mostraram significativamente diferentes entre o grupo de pacientes com PE e o grupo controle (TEIXEIRA *et al.*, 2008).

Na pesquisa realizada, a mediana da concentração de sFlt-1 foi significativamente maior no grupo de pacientes com PE em relação ao grupo controle (44,91ng/mL x 22,25ng/mL), corroborando com as análises descritas pela literatura. A mediana do PLGF foi menor no grupo das pacientes com PE em relação às pacientes normotensas (101,76 pg/mL x 122,7pg/mL), o que também corrobora

com a literatura. No entanto, essa diferença no estudo não foi estatisticamente significativa, o que pode ser explicado pela grande quantidade de perda de amostras. Provavelmente, aumentando-se o n do estudo, encontraríamos uma diferença significativa entre os grupos. A razão sFlt-1/PLGF também foi concordante com a literatura. A mediana foi significativamente maior no grupo das pacientes com PE em relação ao grupo de gestantes hípidas (187,21 x 50,89).

Houve grande variabilidade quantitativa de ambos os marcadores bioquímicos, em ambos os grupos. A concentração de sFlt-1 foi obtida em ng/mL, o que difere da maioria dos estudos, que fornecem a concentração do sFlt-1 em pg/mL. A concentração do PLGF foi obtida em pg/mL como a unanimidade dos estudos. A literatura também discorre sobre grandes variações quantitativas dos fatores de angiogênese no plasma de gestantes entre os estudos e esse fato pode estar relacionado à falta de padronização metodológica. Existem variações entre os autores em relação ao tempo de armazenamento das amostras, à técnica de dosagem e à idade gestacional das pacientes em cada estudo.

Na maioria dos estudos de sFlt-1, como os de Park *et al.* (2005), Stepan *et al.* (2007), Diab *et al.* (2008) e Lim *et al.* (2008), o resultado das concentrações são dados em pg/mL. Nesses estudos, os valores de *cutoff* obtidos para predição de PE variaram de um valor máximo de 2705,8 pg/mL (LIM *et al.*, 2008) a um valor mínimo de 500,0pg/mL (PARK *et al.*, 2005). No estudo de Hertig *et al.* (2004), e no de Chen (2007), os resultados das concentrações de sFlt-1 foram obtidos em ng/mL. (1ng=1000pg). No estudo de Ye (2006), o resultado de sFlit foi fornecido em mg/L.

Em relação ao PLGF, os estudos têm sido unânimes em apresentar os resultados em pg/mL, apesar de também apresentarem grande variação quantitativa. Nos estudos realizados por Chaiworapongsa *et al.* (2004), Stepan *et al.* (2007), Espinoza *et al.*, (2007) e Diab *et al.* (2008) e De Vivo (2008), os valores de *cutoff* para predição de PE variaram de um valor mínimo de 90pg/mL (CHAIWORAPONGSA *et al.*, 2004) a um valor máximo de 382,5pg/mL (DE VIVO, 2008).

Uma revisão sistemática publicada por Widmer *et al.* (2007) questiona a recomendação desses marcadores de angiogênese como teste de *screening* exatamente devido às diferenças metodológicas empregadas. Os principais fatores limitantes são: a diferença na idade gestacional selecionada, o tipo de população

estudada, o tempo de armazenamento das amostras e os diferentes resultados encontrados.

A literatura mostra que a dilatação fluxo mediada (FMD) da artéria braquial é capaz de mensurar a resposta vascular através da variação do diâmetro basal da artéria e do seu diâmetro após um período de oclusão vascular, conseguida por meio da insuflação de um esfigmomanômetro. A FMD é geralmente expressa pela mudança percentual do diâmetro do vaso pós-estímulo quando comparado com o diâmetro do vaso basal. No entanto, segundo alguns pesquisadores, a melhor maneira de avaliar a FMD é registrando a medida do diâmetro basal do vaso, o valor absoluto da modificação pós-estímulo e o valor percentual da mudança (CORRETTI *et al.*, 2002; BOTS *et al.*, 2005).

Vários estudos mostram que um valor alto da FMD da artéria braquial representa função endotelial preservada, enquanto um valor diminuído da FMD representa disfunção endotelial. Pacientes com alteração endotelial apresentam resposta de vasodilatação reduzida e, em alguns casos, até mesmo vasoconstrição pode ser observada (CUNHA FILHO *et al.*, 2010; FAULX; WRIGHT; HOIT, 2003; MOENS *et al.*, 2005; SAVVIDOU *et al.*, 2000; ROBERTS; REDMAN, 1993; MCCARTHY *et al.*, 1993; MEREDITH *et al.*, 1996; JOANNIDES *et al.*, 1995; CORRETTI *et al.*, 2002; FAULX; WRIGHT; HOIT, 2003; SAVVIDOU *et al.*, 2003; GERMAIN *et al.*, 2007).

Em um estudo realizado por Germain *et al.* (2007), as pacientes com história de PE grave e pacientes com história de perdas gestacionais de repetição apresentaram uma diminuição significativa da dilatação fluxo mediada, um índice aumentado de disfunção endotelial comparadas com controles, além de níveis de nitrito mais baixos. Germain *et al.* (2007) estudaram a hipótese de que a disfunção endotelial poderia estar aumentada em mulheres com história prévia de PE ou em pacientes com história de aborto de repetição, quando comparadas com pacientes controles. Essa hipótese foi baseada na crença de que a disfunção endotelial poderia ser um fator predisponente para a placentação anormal, podendo representar um elo de ligação entre defeitos de placentação e desenvolvimento de doenças cardiovasculares. O achado principal desse estudo foi a presença de disfunção endotelial muito após o término da gestação em mais de 50% das pacientes com história de aborto de repetição ou PE grave (GERMAIN *et al.*, 2007).

Na pesquisa realizada, 74 pacientes foram submetidas a exame da FMD da artéria braquial (7,5% de perdas). Seis pacientes não realizaram o exame da dilatação fluxo mediada da artéria braquial, devido a falta de disponibilidade do técnico executor em realizar o exame no momento em que as pacientes foram admitidas. O exame da dilatação fluxo mediada da artéria braquial foi realizado por um único examinador, com o intuito de abolir diferenças de medida interobservador. A técnica utilizada foi minuciosamente descrita para que pudesse ser reproduzida e comparada com outros estudos da literatura.

Os resultados obtidos foram compatíveis com os descritos pela literatura. A mediana da FMD no grupo com PE foi significativamente menor que a mediana no grupo controle (5,40 x 16,13).

No nosso estudo, não foi encontrado nenhum tipo de correlação entre estes três marcadores. No estudo de Savvidou *et al.* (2008) os valores diminuídos da FMD da artéria braquial também não se correlacionaram diretamente com os marcadores bioquímicos de lesão endotelial. As concentrações plasmáticas de PLGF estavam alteradas em mulheres que desenvolveram PE, mas essas alterações não se correlacionaram diretamente com a disfunção endotelial materna.

Ao lado da grande expectativa de predição precoce de PE, estudos científicos avançam na avaliação do uso de fármacos capazes de controlar as alterações dos fatores de angiogênese nas gestantes triadas durante o pré-natal, sem causar danos ao embrião. Estudos experimentais recentes com o VEGF 121, por exemplo, têm demonstrado que ele tem revertido quadros de lesão endotelial renal e placentária, por bloquear a ação do sFlt-1, reduzindo também a hipertensão arterial (WOODS, 2011).

A proposta de se estudar fármacos que tenham a capacidade de restaurar a angiogênese é extremamente tentadora e deve motivar um grande número de estudos nessa área, incluindo a medicina fetal do HC/UFMG.

O estudo de marcadores de angiogênese ainda tem longo caminho a ser trilhado. Novos estudos para padronização de técnicas de exames e dosagens, combinações de marcadores que aumentem o índice de predição, padronização de gestantes que se beneficiariam com estes exames devem ser realizados, até que se

chegue ao nível do uso destes marcadores na prática clínica e ao tratamento da doença antes do aparecimento de seus sintomas.

7 – CONCLUSÃO

Após a análise dos resultados pudemos concluir que:

1. Os níveis de PLGF no grupo com PE foram menores que o grupo controle, mas essa diferença não foi estatisticamente significativa.
2. Os níveis de sFlt-1 e a razão sFlt-1/PLGF foram maiores no grupo das pacientes com PE e essa diferença foi significativa.
3. A dilatação fluxo mediada da artéria braquial foi menor no grupo de PE em relação ao grupo controle e essa diferença foi significativa.
4. Não houve correlação entre os três marcadores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS - ACOG. Diagnosis and management of pre-eclampsia and eclampsia. **Obstetrics and Gynecology**, Hagerstown, v. 99, p. 159-167, Jan, 2002. Practice Bulletin, n. 33.

AKOLEKAR, R. *et al.* Maternal serum placental growth factor at 11 + 0 to 13 + 6 weeks of gestation in the prediction of pre-eclampsia. **Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**, Carnforth, v. 32, p. 732-739, Nov. 2008.

ALEXANDER, B. T. Prenatal influences and endothelial dysfunction: a link between reduced placental perfusion and preeclampsia. **Hypertension**, Dallas, v. 49, n. 4, p. 775-776, Apr. 2007.

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

BANZOLA, I. *et al.* Performance of a panel of maternal serum markers in predicting preeclampsia at 11-15 weeks' gestation. **Prenatal Diagnosis**, Chichester, v. 27, n. 11, p. 1005-1010, Nov. 2007.

BARBOSA, A. S. *et al.* Ophthalmic Artery-Resistive Index and Evidence of Overperfusion-Related Encephalopathy in Severe Preeclampsia. **Hypertension**, Dallas, v. 55, n. 1, p. 189-193, Jan. 2010.

BAUMANN, M. U. *et al.* First-trimester serum levels of soluble endoglin and soluble fms-like tyrosine kinase-1 as first trimester markers for late-onset preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 199, n. 3, p. 266 e1-e6, Sept. 2008.

BAUMWELL, S.; KARUMANCHI, A. S. Pre-eclampsia: clinical manifestations and molecular mechanisms. **Nephron Clinical Practice**, Basel, v. 106, n. 2, p. c72-c81, June 2007.

BENIRSCHKE, K.; KAUFMANN, P. **Pathology of the Human Placenta**. 4th ed. New York: Springer, 2000.

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

BRANDÃO, A. H. F. *et al.* Predição de Pré-eclâmpsia: a realidade atual e as direções futuras. **Femina**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 9, p. 487-491, set. 2010.

BRANDÃO, A. H. F. *et al.* Aspectos técnicos da dilatação fluxo mediada da artéria braquial: resultado depois de diferentes tipos de compressão. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, 2011a. No prelo.

BRANDÃO, A. H. F. *et al.* Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial como método de avaliação da função endotelial na pré-eclâmpsia e em gestantes normotensas.

Revista Médica de Minas Gerais, Belo Horizonte, v. 21, n. 1, p. 9-13, jan./mar. 2011b.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual dos Comitês de Mortalidade Materna**. 3. ed. Brasília, 2007 Disponível em: <<http://www.saude.gov.br>>. Acesso em: 4 jun. 2011.

BRODSZKI, J. *et al.* Vascular mechanical properties and endothelial function in pre-eclampsia with special reference to bilateral uterine artery notch. **Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica**, Stockholm, v. 87, n. 2, p. 154-162, Feb. 2008.

BROSENS, I. A.; ROBERTSON, W.B.; DIXON, H.G. The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. **Obstetrics and Gynecology Annual**, New York, v. 1, p. 177-191, 1972.

BROWN, M. A. *et al.* The detection, investigation and management of hypertension in pregnancy: executive summary. **Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology**, Melbourne, v. 40, n. 2, p. 133-138, May. 2000.

BROWN, N. J. Aldosterone and vascular inflammation. **Hypertension**, Dallas, v. 51, n. 2, p. 161-7, Jan. 2008.

CABRAL, A. C. V. *et al.* Aspectos Atuais da Fisiopatologia da Pre-eclâmpsia com Repercussões na Conduta. **Femina**, Rio de Janeiro, v.37, n. 6, p. 305-308, jan. 2009.

CARMELIET, P. Angiogenesis in health and disease. **Nature Medicine**, New York, v. 9, n. 6, p. 653-660, June 2003.

CELERMAJER, D.S. *et al.* Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. **Lancet**, London, v. 340, n. 8828, p. 1111-1115, Nov. 1992.

CELERMAJER, D. S. *et al.* Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. **Journal of the American College of Cardiology**, New York, v. 24, n. 6, p. 1468-1474, Nov. 1994.

CHAIWORAPONGSA, T. *et al.* Evidence supporting a role for blockade of the vascular endothelial growth factor system in the pathophysiology of preeclampsia. Young Investigator Award. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 190, n. 6, p. 1541-1550, June 2004.

CHEN, Q., *et al.* Predict value of soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 for preeclampsia in second-trimester. **Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology**, Peking, v. 42, n. 3, p. 161-164, Mar. 2007.

CINDROVA-DAVIES, T. *et al.* Nuclear factor-kappa B, p38, and stress-activated protein kinase mitogen-activated protein kinase signaling pathways regulate proinflammatory cytokines and apoptosis in human placental explants in response to oxidative stress: effects of antioxidant vitamins. **American Journal of Pathology**, New York, v. 170, n. 5, p. 1511-1520, May. 2007.

CLEMENT, S. **Psychological perspectives on pregnancy and childbirth**. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1998.

COCKELL, A. P.; POSTON, L. Flow mediated vasodilation is enhanced in normal pregnancy but reduced in preeclampsia. **Hypertension**, Dallas, v. 30, p. 247-251, Aug. 1997.

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

CRISPI, F. *et al.* Placental angiogenic growth factors and uterine artery Doppler findings for characterization of different subsets in preeclampsia and in isolated intrauterine growth restriction. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 195, n. 1, p. 201-207, July 2006.

CRISPI, F. *et al.* Predictive value of angiogenic factors and uterine artery Doppler for early- versus late-onset pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, Carnforth, v. 31, n. 3, p. 303-309, Mar. 2008.

CUNHA FILHO, E. V. *et al.* Flow mediated dilataion in the differential diagnosis of preeclampsia syndrome. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. São Paulo, v. 94, n. 2, p. 195-200, fev. 2010.

CUNNINGHAM, F. G. *et. al.* Implantation, Embryogenesis and Placental Development Pregnancy Hypertension. In.: _____. **Williams OBSTETRICS**. 23rd ed. New York: McGraw Hill, 2010. p. 36-77; p.706-756.

DEKKER, G.; SIBAI, B. Primary, secondary, and tertiary prevention of preeclampsia. **Lancet**, London, v. 357, n. 9251 p. 209-215, Jan. 2001.

DE VIVO, A., *et al.* Endoglin, PLGF and sFlt-1 as markers for predicting pre-eclampsia. **Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica**, Estocolmo, v. 87, n. 8, p. 837-842, Aug. 2008

DIAB, A. E. *et al.* Angiogenic factors for the prediction of pre-eclampsia in women with abnormal midtrimester uterine artery Doppler velocimetry. **International Journal of Gynaecology & Obstetrics**, Baltimore, v. 102, n. 2, p. 146-151, Aug. 2008.

EREZ, O. *et al.* The change in concentrations of angiogenic and anti-angiogenic factors in maternal plasma between the first and second trimesters in risk assesment for the subsequent development of preeclampsia and small-for-gestational age. **Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, London, v. 21, n. 5, p. 279-287, May 2008.

ESPINOZA, J. *et al.* Identification of patients ar risk for early onset and/or severe preeclampsia with the use of uterine artery Doppler velocimetry and placental growth factor. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 196, n. 4, p. 326 e1-e13, Apr. 2007.

FAYYAD, A. M.; HARRINGTON, K.F. Prediction and prevention of preeclampsia and IUGR. **Early Human Development**, Amsterdam, v. 81, n. 11, p. 865-876, Nov. 2005.

FAULX, M. D.; WRIGHT, A.T.; HOIT, B.D. Detection of endothelial dysfunction with brachial artery ultrasound scanning. **American Heart Journal**, Saint Louis, v. 145, n. 6, p. 943-951, June 2003.

FISHER, S. J.; McMASTER, M.; ROBERTS, J. M. The placenta in normal pregnancy and preeclampsia. In: LINDHEIMER, M. D.; CUNNINGHAM, F.; ROBERTS, J., editors. **Chesley's hypertensive disorders in pregnancy**. 3rd ed. San Diego: Academic Press, 2009. p. 73-85.

GANT, N. F. *et al.* Control of vascular reactivity in pregnancy. **American Journal of Kidney Diseases**, New York, v.9, n. 4, p. 303-307, Apr.1987.

GERMAIN, A. M. *et al.* Endothelial dysfunction: a link among preeclampsia, recurrent pregnancy loss, and future cardiovascular events? **Hypertension**, Dallas, v. 49, n. 1, p. 90-95, Jan. 2007.

HAMILTON, W.; BOYD, J. Trophoblast in human utero-placental arteries. **Nature**, London, v. 212, n. 5065, p. 906-908, Nov. 1966.

HARRIS, R. A. *et al.* Ultrasound Assessment of Flow-Mediated Dilation. **Hypertension**, Dallas, v. 55, n. 5, p. 1075-1085, Mar. 2010

HATA, T.; HATA, K.; MORITAKE, K. Maternal ophthalmic artery Doppler velocimetry in normotensive pregnancy and pregnancy complicated by hypertensive disorders. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 177, n. 1, p. 174-178, July 1997.

HERTIG A. *et al.* Maternal serum sFlt-1 concentration is an early and reliable predictive marker of preeclampsia. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 50, n. 9, p. 1702-1703, Sep. 2004.

HUNG, T. H. *et al.* Secretion of tumor necrosis factor-alpha from human placental tissues induced by hypoxia-reoxygenation causes endothelial cell activation in vitro: a potential mediator of the inflammatory response in preeclampsia. **American Journal of Pathology**, New York, v. 164, n. 3, p. 1049-1061, Mar. 2004.

HUPPERTZ, B. Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. **Hypertension**, Dallas, v. 51, n. 4, p. 970-975, Apr. 2008.

JOANNIDES, R. *et al.* Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. **Circulation**, Dallas, v. 91, n. 5, p. 1314-9, Mar. 1995.

KAUFMANN, P.; BLACK, S.; HUPPERTZ, B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. **Biology of reproduction**, New York, v. 69, n. 1, p. 1-7, July 2003.

KENDALL, R. L.; THOMAS, K.A. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington DC, v. 90, n. 22, p. 10705-10709, Nov.1993.

KENDALL, R. L.; WANG, G.; THOMAS, K.A. Identification of a natural soluble form of the vascular endothelial growth factor receptor, FLT-1, and its heterodimerization with KDR. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, v.226, n. 2, p. 324-328, Sept. 1996.

KHONG, T. Y. *et al.* Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by pre-eclampsia and by small-for-gestational age

infants. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, London, v. 93, n. 10, p. 1049-1059, Oct. 1986.

KNIGHT, M. *et al.* Antiplatelet agents for preventing and treating preeclampsia. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, Chichester, n. 2, July 2007. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/o/cochrane/clsysrev/articles/CD000492/frame.html>>. Acesso em: 08 out. 2010.

KOGA, K. *et al.* Elevated serum soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 (sVEGFR-1) levels in women with preeclampsia. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Philadelphia, v.88, n. 5, p. 2348-2351, May 2003.

KRAUSS, T.; PAUER, H. U., AUGUSTIN, H. G. Prospective analysis of placenta growth factor (PlGF) concentrations in the plasma of women with normal pregnancy and pregnancies complicated by preeclampsia. **Hypertens Pregnancy**, New York, v. 23, n. 1, p. 101-111, 2004.

KUPFERMINTZ, M. J. *et al.* Low molecular weight heparin for the prevention of obstetric complications in women with thrombophilia. **Hypertens Pregnancy**, New York, v. 20, n. 1, p. 35-44, 2001.

KUSANOVIC, J. P. *et al.* A prospective cohort study of the value of maternal plasma concentrations of angiogenic and anti-angiogenic factors in early pregnancy and midtrimester in the identification of patients destined to develop preeclampsia. **Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, London, v. 22, n. 11, p. 1021-1038, Nov. 2009.

LEVINE, R. J., *et al.* Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 350, n. 7, p. 672-683, Feb. 2004.

LEVINE, R. J. *et al.* Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 355, n. 10, p. 992-1005, Sept. 2006.

LIM, J. H. *et al.* Effective prediction of preeclampsia by a combined ratio of angiogenesis-related factors. **Obstetrics and Gynecology**, Hagerstown, v. 111, n. 6, p. 1403-1409, June 2008.

LYALL, F.; GREER, I. A. The vascular endothelium in normal pregnancy and preeclampsia. **Reviews of Reproduction**, Colchester, v. 1, n. 2, p. 107-116, May. 1996.

MADAZLI, R. *et al.* Correlation between placental bed biopsy findings, vascular cell adhesion molecule and fibronectin levels in preeclampsia. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, London, v. 107, n. 4, p. 514-518, Apr. 2000.

MALVINO, E. **Breve historia de la preeclampsia – eclampsia**. [Buenos Aires], 2008. Disponível em: <http://www.obstetriciacritica.com.ar/doc/Historia_Preeclampsia.pdf>. Acesso em: 20 fev. 2011.

MASUYAMA, H. *et al.* Circulating angiogenic factors in preeclampsia, gestational proteinuria, and preeclampsia superimposed on chronic glomerulonephritis.

American Journal of Obstetrics and Gynecology, Saint Louis, v. 194, n. 2, p. 551-556, Feb. 2006.

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

MEADS, C. A. *et al.* Methods of prediction and prevention of pre-eclampsia: systematic reviews of accuracy and effectiveness literature with economic modeling. **Health Technology Assessment**, Winchester, v.12, n.6, p. 1-270, Mar. 2008.

MEREDITH, I. T. *et al.* Postischemic vasodilation in human forearm is dependent on endothelium-derived nitric oxide. **American Journal of Physiology**, Bethesda, v. 270, n. 4, p. H1435-1440, Apr. 1996.

McCARTHY, A. L. *et al.* Abnormal endothelial function of resistance arteries from women with preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 168, n. 4, p. 1323-1330, Apr. 1993.

MOENS, A. L. *et al.*, Flow mediated vasodilation: a diagnostic instrument, or an experimental tool? **Chest**, Park Ridge, v. 127, n. 6, p. 2254-2263, June 2005.

MOORE SIMAS, T. A. *et al.* Angiogenic factors for the prediction of preeclampsia in high-risk women. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 197, n. 3, p. 244 e1-e8, Sept. 2007.

NESS, R. B.; HUBEL, C. A. Risk for coronary artery disease and morbid preeclampsia: a commentary. **Annals of Epidemiology**, New York, v. 15, n. 9, p. 726-733, Oct. 2005.

NATIONAL HIGH BLOOD PRESSURE EDUCATION WORKING GROUP ON HIGH BLOOD PRESSURE IN PREGNANCY - NHBPEPWG. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 83, n. 1, p. 1689-1712, July, 2000.

NICOLAIDES, K. H. *et al.* A novel approach to first-trimester screening for early preeclampsia combining serum PP-13 and Doppler ultrasound. **Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**, Carnforth, v. 27, n. 1, p. 13-17, Jan. 2006.

NORWITZ, E. R.; FUNAI, E. F. Expectant management of severe preeclampsia remote from term: hope for the best, but expect the worst. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 199, n. 3, p. 209-212, Sept. 2008.

OHKUCHI, A. *et al.* Alterations in placental growth factor levels before and after the onset of preeclampsia are more pronounced in women with early onset severe preeclampsia. **Hypertension research**, Toyonaka, v. 30, n. 2, p. 151-159, Feb. 2007.

PARK, Y. W. *et al.* Uterine artery Doppler velocimetry during mid-second trimester to predicts complications of pregnancy based on unilateral or bilateral abnormalities. **Yonsei Medical Journal**, Seoul, v. 46, n. 5, p. 652-657, Oct. 2005.

PECHÁNOVÁ, O.; SIMKO, F. The role of nitric oxide in the maintenance of vasoactive balance. **Physiological Research**, Praga, v. 56, suppl. 2, p. S7-S16, 2007.

PIERING, W.F. *et al.* Preeclampsia related to a functioning extrauterine placenta: report of a case and 25 year follow-up. **American Journal of Kidney Diseases**, New York, v. 21, n. 3, p. 310-313, Mar. 1993.

PIHL, K. *et al.* First trimester maternal serum PAPP-A, β -hCG and ADAM12 in prediction of small-for-gestational-age fetuses. **Prenatal Diagnosis**, Chichester, v. 28, n. 12, p. 1131-1135, Dec. 2008.

PIJNENBORG, R. *et al.* Uteroplacental arterial changes related to interstitial trophoblast migration in early human pregnancy. **Placenta**, London, v. 4, n. 4, p. 397-413, Oct. 1983.

PILALIS, A. *et al.* Screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by uterine artery Doppler and PPAP-A at 11-14 weeks' gestation. **Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**, Carnforth, v. 29, 2, p. 135-140, Feb. 2007.

PLASENCIA, W. *et al.* Uterine artery Doppler at 11+0 to 13+6 weeks and 21+0 to 24+6 weeks in the prediction of pre-eclampsia. **Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**, Carnforth, v. 32, n. 2, p. 138-146, Aug. 2008.

POON, L. C. Y., *et al.* First-trimester maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A and preeclampsia. **Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**, Carnforth, v. 33, n. 1, p. 23-33, Jan. 2009.

POWERS, R. W., *et al.* Maternal serum soluble fms-like tyrosine kinase 1 concentrations are not increased in early pregnancy and decrease more slowly postpartum in women who develop preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 193, n. 1, p. 185-191, July 2005.

PURWOSUNU, Y. *et al.* Evaluation of physiological alterations of the placenta through analysis of cell-free messenger ribonucleic acid concentrations of angiogenic factors. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v.198, n .1, p. 124 e1-e7, Jan. 2008.

PURWOSUNU, Y *et al.* Prediction of preeclampsia by analysis of cell-free messenger RNA in maternal plasma. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 200, n. 4, p. 386 e1-e7, Apr. 2009.

PYKE, K. E.; TSCHAKOVSKY, M. E. The relationship between shear stress and flow-mediated dilatation: implications for the assessment of endothelial function **Journal of physiology**, London, v. 568, pt 2, p. 357-369, July 2005.

RAITAKARI, O. T.; CELERMAJER, D.S. Flow mediated dilatation. **British Journal of Clinical Pharmacology**, London, v. 50, n. 5, p. 397-404, Nov. 2000.

RAMSEY, E. M., DONNER, M. W. **Placental Vasculature and Circulation**. Philadelphia: Saunders, 1980.

REDMAN, C. W.; SARGENT, I. L. Latest advances in understanding preeclampsia. **Science**, Washington DC, v. 308, n. 5728, p. 1592-1594, June 2005.

_____. Circulating microparticles in normal pregnancy and preeclampsia. **Placenta**, Londres, v. 29, supl. A, p. S73-S77, Mar. 2008.

ROBERTS, J. M.; REDMAN, C. W. G. Preeclampsia: more than pregnancy-induced hypertension. **Lancet**, Londres, v. 341, n. 8858, p. 1447-1451, June 1993.

ROBERTS, J. M. Pregnancy-related hypertension. In: CREASY, R. K.; RESNIK, R. **Maternal-Fetal Medicine**. 4th ed. Philadelphia: Saunders, 1999. p. 833-872.

ROBERTS, J. M.; CATOV, J.M. Preeclampsia more than 1 disease or is it?. **Hypertension**, Dallas, v. 51, n. 4, p. 989-990, Apr. 2008.

ROBINSON, C. J.; JOHNSON, D. J. Soluble endoglin as a second-trimester marker for preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 197, n. 2, p. 174 e1-e6, Aug. 2007.

SALAHUDDIN, S. *et al.* Diagnostic utility of soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in hypertensive disorders of pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 197, n. 1, p. 28 e1-e6, July 2007.

SAVVIDOU, M. D. *et al.* Non-invasive assessment of endothelial function in normal pregnancy. **Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**, Carnforth, v. 15, n. 6, p. 502-507, June 2000.

SAVVIDOU, M. D. *et al.* Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop preeclampsia. **Lancet**, London, v. 361, n. 9368, p.1511-1517, May 2003.

SAVVIDOU, M. D. *et al.* Maternal endothelial function and serum concentrations of placental growth factor and soluble endoglin in women with abnormal placentation. **Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**, Carnforth, v. 32, n. 7, p. 871-876, Dec. 2008.

SHAH, D. M. Role of the renin-angiotensin system in the pathogenesis of preeclampsia. **American Journal of Physiology. Renal Physiology**, Bethesda, v. 288, n. 4, p. 614-625, Apr. 2005.

SHIBUYA, M. Structure and function of VEGF/VEGF-receptor system involved in angiogenesis. **Cell Structure and Function**, Tokio, v. 26, n. 1, p. 25-35, Feb. 2001.

SIBAI, B. M. Prevention of preeclampsia: a big disappointment. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 179, n. 5, p. 1275-1278, Nov. 1998.

_____. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. **Obstetrics and Gynecology**, Hagerstown, v. 102, n. 1, p. 181-192, July 2003.

SIBAI, B. M.; DEKKER, G. A.; KUPFERMINE, M. Preeclampsia. **Lancet**, London, v. 365, n. 9461, p. 785-799, Feb. 2005.

SIBAI, B. M.; STELLA, C. L. Diagnosis and management of atypical preeclampsia-eclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 200, n. 5, p. 481 e1-e7 May. 2009.

SIERRA-LAGUADO, J.; GARCIA, R.G.; LÓPEZ-JARAMILLO, P. Flow-mediated dilatation of the brachial artery in pregnancy. **International Journal of Gynaecology & Obstetrics**, Baltimore, v. 93, n. 1, p. 60-61, Apr. 2006.

SIGNORE, C. *et al.* Circulating soluble endoglin and placental abruption. **Prenatal Diagnosis**, Chichester, v. 28, n. 9, p. 852-858, Sept. 2008.

SLADEK, S.M.; MAGNESS, R.R.; CONRAD, K.P. Nitric oxide and pregnancy. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 272, n. 2, p. R441-R463, Feb. 1997.

SORENSEN, K.E. *et al.* Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. **British Heart Journal**, Londres, v. 74, n. 3, p. 247-253, Sept. 1995.

SPENCER, K. *et al.* Prediction of pregnancy complications by first-trimester maternal serum PAPP-A and free β hCG and with second-trimester uterine artery Doppler. **Prenatal Diagnosis**, Chichester, v. 25, n. 10, p. 949-953, Oct. 2005.

SPENCER, K.; COWANS, N.J., STAMATOPOULOU, A. ADAM12s in maternal serum as a potential marker of pre-eclampsia. **Prenatal Diagnosis**, Chichester, v. 28, n. 3, p. 212-216, Mar. 2008.

STAFF, A.C. *et al.* Circulating Concentrations of sFlt1 (soluble fms-like tyrosine kinase 1) in fetal and maternal serum during pre-eclampsia. **European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology**, Amsterdam, v. 122, n. 1, p. 36-39, Sept. 2005.

STEPAN, H. *et al.* Predictive value of maternal angiogenic factors in second trimester pregnancies with abnormal uterine perfusion. **Hypertension**, Dallas, v. 49, n. 4, p. 818-824, Apr. 2007.

STEPAN, H. *et al.* Circulatory soluble endoglin and its predictive value for preeclampsia in second-trimester pregnancies with abnormal uterine perfusion. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 198, n. 2, p. 175 e1-e6, Feb. 2008.

SUGIMOTO, H. *et al.* Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble VEGF receptor 1 (sFlt-1) induces proteinuria. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 278, n. 15, p. 12605-12608, Apr. 2003.

TAKATA, M.; NAKATSUKA M.; KUDO, T. Differential blood flow in uterine, ophthalmic, and brachial arteries of preeclamptic women. **Obstetrics and Gynecology**, Hagerstown, v. 100, n. 5, p. 931-939, Nov. 2002.

TAYLOR, R.N. *et al.* Longitudinal serum concentrations of placental growth factor: evidence for abnormal placental angiogenesis in pathologic pregnancies. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 188, n. 1, p. 177-182, Jan. 2003.

TEIXEIRA, P. G. *et al.* Placental growth factor (PlGF) is a surrogate marker in preeclamptic hypertension. **Hypertension in Pregnancy**, New York, v. 27, n. 1, p. 65-73, 2008.

THADHANI, R. *et al.* First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Philadelphia, v. 89, n. 2, p. 770-775, Feb. 2004.

TJOA, M.L. *et al.* Trophoblastic oxidative stress and the release of cell-free fetal-placental DNA. **American Journal of Pathology**, New York, v. 169, n. 2, p. 400-404, Aug. 2006.

UEHATA, A. *et al.* Noninvasive assessment of endothelium-dependent flow-mediated dilation of the brachial artery. **Vascular Medicine**, v. 2, n. 2, p. 87-92, 1997.

VON DADELSZEN, P.; MAGGE, L.A.; ROBERTS, J.M. Subclassification of preeclampsia. **Hypertension in Pregnancy**, New York, v. 22, n. 2, p. 143-148, 2003.

WANG, Y. *et al.* Evidence of endothelial dysfunction in preeclampsia: decreased endothelial nitric oxide synthase expression is associated with increased cell permeability in endothelial cells from preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 190, n. 3, p. 817-824, Mar. 2004.

WELCH, P. C., *et al.* Correlations of placental perfusion and PIGF protein expression in early human pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 194, n. 6, p. 1625-1631, June 2006.

WIDMER, M. *et al.* Mapping the theories of preeclampsia and the role of angiogenic factors: a systemic review. **Obstetrics and Gynecology**, Hagerstown, v. 109, n. 1, p. 168-180, Jan. 2007.

WOODS, A. K. *et al.* Adenoviral delivery of VEGF 121 early in pregnancy prevents spontaneous development of preeclampsia in BPH/5 mice. **Hypertension**, Dallas, v. 57, n.1, p. 94-102, Jan. 2011.

YE, Y. H. *et al.* Predict value of serum soluble fms-like tyrosine kinase 1 concentration in preeclampsia at second trimester., **Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology**, Peking, v. 41, n. 7, p. 433-435, July 2006.

YU, C. K. *et al.* An integrated model for the prediction of preeclampsia using maternal factors and uterine artery Doppler velocimetry in unselected low risk women. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 193, n. 2, p. 429-436, Aug. 2005.

ZHONG, Y.; TUULI, M.; ODIBO, A.O. First-trimester assessment of placenta function and the prediction of preeclampsia and intrauterine growth restriction. **Prenatal Diagnosis**, Chichester, v. 30, n. 4, p. 293-308, Apr. 2010.

ZHOU, Y. *et al.* Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. **American Journal of Pathology**, Nova Iorque, v. 160, n. 4, p. 1405-23, Apr. 2002.

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e esclarecido

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

- 1- A pré-eclâmpsia é uma doença grave na gestação, onde a pressão arterial se eleva, colocando em risco a mãe e o filho. Até o momento não se conhece exatamente como evitar o aparecimento da doença. Diversos estudos vêm sendo feitos na tentativa de entender porque a pré-eclâmpsia acontece em algumas gestantes e em determinados casos de forma grave.
- 2- A pré-eclâmpsia é marcada por uma alteração nos vasos do organismo, que pode ser avaliada por medida da dilatação dos vasos através do aparelho de ultra-som e por substâncias encontradas no sangue periférico.
- 3- Um exame chamado de Dilatação Fluxo Mediada (DILA) é capaz de avaliar a função e integridade do vaso nas gestantes com pré-eclâmpsia. O método consiste em apertar o braço com o manguito do aparelho de medir pressão arterial, por quatro minutos, e a seguir medir a dilatação do vasos através do aparelho de ultra-som. Esse exame não é invasivo, mais você poderá sentir um leve formigamento no braço que desaparecerá em poucos segundos, sem causar nenhum dano.
- 4- Algumas substâncias encontradas no sangue periférico, chamadas de marcadores de angiogênese, VEGF PIGF e sFlt-1, também podem refletirem as alterações nos vasos sanguíneos das gestantes com pré-eclâmpsia. Para isso é preciso coletar uma amostra de sangue para análise em laboratório.
- 5- A punção da veia do seu braço, para retirada de 10ml de sangue, pode provocar dor de leve intensidade e às vezes levar a formação de um pequeno hematoma (coloração arroxeadas) no local e muito raramente vermelhidão.

- 6- Esses dois exames não fazem parte da rotina do Hospital das Clínicas e você deve estar ciente que os objetivos estão ligados somente à pesquisa. O Centro de Medicina Fetal da UFMG é um importante centro de estudos, onde são desenvolvidas pesquisas que têm como objetivo aprimorar os métodos de diagnóstico da pré-eclâmpsia.
- 7- Não há vantagens diretas para você caso aceite a participar; e se você recusar, o seu tratamento no Hospital das Clínicas não será de forma alguma alterado. Seu nome ou do seu filho não serão divulgados em resultados e publicações e só os pesquisadores do CEMEFE terão acesso à seus dados.
- 8- Caso seja de seu interesse, os resultados estarão guardados com o pesquisador e lhe serão entregues assim que você solicitar.
- 9- Eu....., portadora de documento de identidade..... expedido pela....., estou ciente do que foi exposto acima e autorizo a realização do exame do DILA, bem como retirada de uma amostra de meu sangue para pesquisa. Participo voluntariamente deste estudo e estou ciente de que as amostras colhidas não trarão prejuízo à minha saúde ou do meu filho.

Assinatura da paciente: _____

Data:

Centro de Medicina Fetal –HC-UFMG – 3409-9422
Comitê de Ética em Pesquisa (COEP-UFMG): (31)3409-4592
Av. Antônio Carlos, 6627 Unidade Administrativa II, 2º andar - Campus Pampulha.
Belo Horizonte MG – CEP: 31270-901

ANEXO A – Parecer COEP-UFMG



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

Parecer nº. ETIC 280/08

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

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 17 de setembro de 2008, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "**Correlação entre Dilatação Fluxo Mediada (DILA) de artéria braquial e os valores séricos de VEGF, PIGF e sFlt-1 nas gestantes portadoras de pré-eclâmpsia**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

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

Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

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



ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de **CRISTINA MÁRCIA NOGUEIRA SALOMÃO**, nº de registro 2009655308. No dia **trinta e um de agosto de dois mil e onze**, reuniu-se na Faculdade de Medicina da UFMG a Comissão Examinadora de dissertação indicada pelo Colegiado do Programa para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: **"CORRELAÇÃO ENTRE A DILATAÇÃO FLUXO MEDIADA (FMD) DA ARTÉRIA BRANQUIAL E OS VALORES SÉRICOS MATERNS DE PLGF E sFit-1 EM GESTANTES NORMAIS E COMPLICADAS POR PRÉ-ECLAMPسيا"**, requisito final para a obtenção do grau de Mestre em Saúde da Mulher, pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher - Área de Concentração Perinatologia. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Henrique Vitor Leite, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho final, passou a palavra à candidata para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata e do público para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. Henrique Vitor Leite/ Orientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APTA</u>
Prof. Juliana Silva Barra	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APTA</u>
Prof. Ana Paula Brum Miranda Lopes	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Apta</u>

Pelas indicações a candidata foi considerada APROVADA.

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 31 de agosto de 2011.

Prof. Henrique Vitor Leite / Orientador _____

Profa. Juliana Silva Barra _____

Profa. Ana Paula Brum Miranda Lopes _____

Prof. Antônio Carlos Vieira Cabral/Coordenador _____

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador.

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

CONFERE COM ORIGINAL
Centro de Pós-Graduação
Faculdade de Medicina - UFMG



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

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



DECLARAÇÃO

A Comissão Examinadora abaixo assinada, composta pelos Professores Doutores Henrique Vitor Leite, Juliana Silva Barra e Ana Paula Brum Miranda Lopes, aprovou a defesa da dissertação intitulada **“CORRELAÇÃO ENTRE A DILATAÇÃO FLUXO MEDIADA (FMD) DA ARTÉRIA BRANQUIAL E OS VALORES SÉRICOS MATERNOS DE PLGF E sFlt-1 EM GESTANTES NORMAIS E COMPLICADAS POR PRÉ-ECLAMPSIA”** apresentada pela mestrandia **CRISTINA MÁRCIA NOGUEIRA SALOMÃO**, para obtenção do título de mestre em Saúde da Mulher, pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher - Área de Concentração em Perinatologia, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 29 de julho de 2011.

Prof. Henrique Vitor Leite
Orientador

Profa. Juliana Silva Barra

Profa. Ana Paula Brum Miranda Lopes