



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

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

**AVALIAÇÃO LONGITUDINAL DA PERFUSÃO UTERINA, FUNÇÃO  
ENDOTELIAL E FLUXO SANGUÍNEO CENTRAL EM PACIENTES  
COM FATORES DE RISCO PARA PRÉ-ECLÂMPSIA PRECOCE**

**LUDMILA BARCELOS PORTO**

**BELO HORIZONTE**

**2016**

**LUDMILA BARCELOS PORTO**

**AVALIAÇÃO LONGITUDINAL DA PERFUSÃO UTERINA, FUNÇÃO  
ENDOTELIAL E FLUXO SANGUÍNEO CENTRAL EM PACIENTES  
COM FATORES DE RISCO PARA PRÉ-ECLÂMPSIA PRECOCE**

Dissertação 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.

Área de concentração: Perinatologia

Orientador: Prof. Dr. Henrique Vitor Leite

Co-orientador: Dr. Augusto Henriques Fulgêncio Brandão

**BELO HORIZONTE**

**2016**

*Aos meus pais, pelo amor incondicional e  
por me darem apoio e segurança em todos os momentos da minha vida.*

*Ao Gustavo, pela paciência e incentivo inabaláveis,  
e por sempre zelar genuinamente por minha felicidade.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Henrique Vitor Leite, pelo exemplo de profissionalismo e liderança em todas as esferas em que atua, merecendo minha eterna admiração. Por seu compromisso incansável com o aprendizado edificante, pela valiosa orientação acadêmica e pela presença indubitável em momentos de dificuldade.

Ao Doutor Augusto Henriques Fulgêncio Brandão, pelo direcionamento e empenho em me auxiliar durante todas as etapas deste trabalho. Pela disponibilidade, pela orientação acadêmica e estatística, e pela agradável companhia.

À Professora Alamanda Kfoury, pela orientação fundamental na fase inicial de meu projeto de mestrado.

À Professora Zilma Reis, pelo incentivo e ensinamentos que motivaram meu interesse e inserção na área de pesquisa. E por ser um exemplo de competência e empreendedorismo na área médica.

Ao Professor Antônio Carlos Vieira Cabral, pela oportunidade de ingressar no CEMEFE e presenciar a excelência de sua atuação como médico, pesquisador e professor.

A toda a equipe do Centro de Medicina Fetal da UFMG, pelo apoio e contribuição desde o início de minha vida acadêmica.

Ao Professor Mário Dias Corrêa Júnior, por seus valiosos ensinamentos em Gestaçã de Alto Risco, pelos conselhos e orientação constante durante minha formação.

Aos funcionários da Pós-Graduação da Faculdade de Medicina e do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Maternidade HC-UFMG, pela gentileza e disponibilidade.

Às gestantes, por sua preciosa contribuição e confiança, que viabilizaram a realização deste estudo.

Aos queridos Luana, Hugo e Aline, pelo companheirismo, pelas confidências e experiências compartilhadas em todo esse caminho.

Aos colegas residentes do HC-UFMG, pela amizade no convívio diário e por sua valiosa contribuição no recrutamento de pacientes.

Aos colegas da pós-graduação, por partilharem suas vivências, desafios enfrentados e desfrutar comigo importantes momentos de descontração.

Aos meus familiares, à Raquel e Fernanda, pela certeza do conforto e por me motivarem sempre.

*O que nos salva é dar um passo, e outro ainda.*

Antoine de Saint-Exupéry

## RESUMO

**Introdução:** Os mecanismos fisiopatológicos que desencadeiam as manifestações clínicas na pré-eclâmpsia (PE) ainda não foram totalmente elucidados, e o manejo das pacientes permanece um desafio. A identificação de ferramentas para predição do início da instalação da pré-eclâmpsia e prevenção de suas principais complicações é de grande interesse clínico. **Objetivos:** Avaliar o comportamento da perfusão placentária, função endotelial e perfusão do Sistema Nervoso Central em pacientes com alto risco de desenvolvimento de pré-eclâmpsia em três momentos distintos da gestação. Os resultados obtidos pelos métodos propedêuticos serão comparados entre o grupo de pacientes que desenvolveu pré-eclâmpsia precoce e um grupo controle, de pacientes que se mantiveram normotensas, para avaliar a capacidade de predição da PE pelos métodos utilizados. **Pacientes e Métodos:** Sessenta e duas pacientes com fatores de risco para o desenvolvimento de pré-eclâmpsia foram recrutadas no serviço de Pré-natal de Alto Risco do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. As pacientes foram submetidas à dopplerfluxometria de artérias uterinas e oftálmicas e à dilatação fluxo-mediada da artéria braquial (DFM) entre 16+0 e 19+6 semanas, 24+0 e 27+6 semanas e à admissão hospitalar para o parto. **Resultados:** Dez gestações foram complicadas por pré-eclâmpsia precoce, e essas pacientes apresentaram índice de pulsatilidade das artérias uterinas significativamente maior entre 16+0 e 19+6 semanas, em comparação com o grupo controle ( $p = 0,016$ ). Valores de DFM foram menores nas pacientes afetadas entre 24+0 e 27+6 semanas ( $p = 0,001$ ), e ambos os valores de DFM e índice de resistência das artérias oftálmicas apresentaram-se diminuídos no momento do parto nessas pacientes ( $p < 0,002$ ). **Conclusão:** Os resultados demonstram que o comprometimento da perfusão placentária, a disfunção endotelial sistêmica e a hiperperfusão central precedem cronologicamente as manifestações clínicas em pacientes de alto risco que desenvolvem pré-eclâmpsia precoce.

**Palavras-chave:** Pré-eclâmpsia. Dopplerfluxometria. Perfusão placentária. Disfunção endotelial.

## ABSTRACT

**Background:** Physiopathological mechanisms that trigger clinical manifestations in preeclampsia (PE) remain unclear, and management is still a challenge. The identification of tools to predict the onset of PE and prevent its complications is of great interest. **Objectives:** The aim of this study was to evaluate the behaviour of placental perfusion, endothelial function and central nervous system perfusion in patients with a high risk for PE development in three distinct moments of pregnancy. Results obtained from the methods applied will be compared between a group of patients who developed early-onset PE and a control group of patients who remained normotensive, in an attempt to evaluate the potential of PE prediction using such investigative methods. **Patients and methods:** Sixty-two patients were recruited from the high-risk prenatal service of Hospital das Clínicas of Federal University of Minas Gerais, and followed throughout gestation. Patients were submitted to Dopplervelocimetry of uterine and ophthalmic arteries and flow-mediated dilation (FMD) between 16+0 and 19+6 weeks, 24+0 and 27+6 weeks and in hospital admission to delivery. **Results:** Ten pregnancies were complicated by early-onset PE, and these patients presented a significantly higher pulsatility index of uterine arteries between 16+0 and 19+6 weeks of gestation, compared with control group ( $p=0,016$ ). FMD values were lower in affected patients at 24+0 to 27+6 weeks ( $p=0,001$ ), and both FMD and ophthalmic artery resistance index presented lower values by the time of delivery ( $p<0,002$ ). **Conclusion:** These results demonstrate that impaired placental perfusion, systemic endothelial dysfunction and central hyperperfusion temporarily precede the clinical manifestations in high-risk patients who develop early-onset PE.

**Keywords:** Preeclampsia. Dopplervelocimetry. Placentalperfusion. Endothelial dysfunction.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADMA – Dimetil-arginina assimétrica

ALT – Alanina aminotransferase

AST – Aspartato aminotransferase

AT1 - Receptor de angiotensina II tipo1

AT1-AA – Auto-anticorpos agonistas do receptor AT1

CEMEFE - Centro de Medicina Fetal

CIUR - Crescimento intrauterino restrito

COEP - Comitê de Ética em Pesquisa

DDAH – dimetilamino-hidrolase

DMG - Diabetes mellitus gestacional

DP - Desvio-padrão

DFM - Dilatação fluxo-mediada

HAC- Hipertensão arterial crônica

HC-UFMG - Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais

HELLP - Hemolysis, elevated liver, low platelets

HIV - Vírus da imunodeficiência humana

IC - Intervalo de confiança

IG – Idade gestacional

IMC - Índice de massa corporal

IP - Índice de pulsatilidade

IP-AUt - Índice de pulsatilidade das artérias uterinas

IRAO – Índice de resistência das artérias oftálmicas

NHBPEPWG - National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy

NICE – National Institute of Health Clinical Excellence

NO - Óxido nítrico

NOS – Óxido nítrico sintetase

PA – Pressão arterial

PAM - Pressão arterial média

PAPP-A – Proteína plasmática A associada à gravidez

PCR - Proteína C reativa

PE - Pré-eclâmpsia

PIERS – Preeclampsia integrated estimate of risk

PIGF - Fator de crescimento placentário

PP13 - Proteína placentária 13

PRES – Síndrome de encefalopatia posterior reversível

ROS - Espécies reativas de oxigênio

RR - Risco relativo

sEng - Endoglin solúvel

sFlt1 - Vascular endothelial growth factor receptor type 1

SNC – Sistema nervoso central

SPSS - Statistical Package for Social Sciences

SRAA - Sistema renina-angiotensina-aldosterona

TCLE - Termo de consentimento livre e esclarecido

TNF - Fator de necrose tumoral

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais

VEGF - Fator de crescimento do endotélio vascular

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** – Esquema do desenvolvimento e diferenciação precoce da linhagem trofoblástica ..... 28
- FIGURA 2** – Representação ultrassonográfica do *peak ratio*, definido pela razão entre o pico 2 e o pico 1 (pico de velocidade sistólica) ..... 42
- FIGURA 3** – Representação esquemática da técnica de realização do exame de dilatação fluxo-mediada da artéria braquial ..... 48
- FIGURA 4** - Imagem ultrassonográfica da artéria braquial (painel superior) e das ondas do Doppler obtidas da artéria braquial em repouso (painel inferior, primeira imagem) e durante a hiperemia reativa (painel inferior, segunda imagem) ..... 49

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> - Fatores de risco para pré-eclâmpsia preexistentes à gestação .....	25
<b>TABELA 2</b> - Fatores de risco apresentados pelas gestantes incluídas no estudo .....	45
<b>TABELA 3</b> – Características clínicas e demográficas de pacientes normotensas e pacientes que desenvolveram pré-eclâmpsia precoce .....	51
<b>TABELA 4</b> – Pressão arterial média (PAM) e resultados ultrassonográficos de IP médio e DFM de pacientes normotensas e pacientes que desenvolveram pré-eclâmpsia precoce, à avaliação entre 16+0 e 19+6 semanas .....	52
<b>TABELA 5</b> – Idade gestacional, PAM e resultados ultrassonográficos de IP médio, DFM e IRAO de pacientes normotensas e pacientes que desenvolveram PE precoce, à avaliação entre 24+0 e 27+6 semanas .....	54
<b>TABELA 6</b> – Resultados ultrassonográficos de DFM e IRAO de pacientes do grupo controle e pacientes que desenvolveram PE precoce, à admissão para o parto .....	56

## LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1** - Comparação do índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas no período de 16 a 20 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce ..... 53
- GRÁFICO 2** - Comparação da dilatação fluxo-mediada de 16 a 20 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de PE precoce ..... 53
- GRÁFICO 3** - Comparação do índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas de 24 a 28 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce ..... 55
- GRÁFICO 4** - Comparação da dilatação fluxo-mediada de 24 a 28 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce ..... 55
- GRÁFICO 5** – Comparação do índice de resistência das artérias oftálmicas de 24 a 28 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce ..... 56
- GRÁFICO 6** - Comparação da dilatação fluxo-mediada à admissão para o parto entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce ..... 57
- GRÁFICO 7** – Comparação do índice de resistência das artérias oftálmicas à admissão para o parto entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce ..... 57

# SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2.</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	18
2.1	Pré-eclâmpsia: considerações gerais .....	18
2.2	Características clínicas .....	20
2.3	Classificação .....	21
2.4	Fatores de risco .....	24
2.5	Fisiopatologia: teorias .....	27
2.6	Invasão trofoblástica e perfusão uterina na pré-eclâmpsia .....	29
2.6.1	Dopplerfluxometria das artérias uterinas .....	31
2.6.2	Marcadores séricos do processo de angiogênese .....	32
2.7	Disfunção endotelial na pré-eclâmpsia .....	35
2.7.1	Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial .....	38
2.8	Hiperfluxo central na pré-eclâmpsia .....	40
2.8.1	Dopplerfluxometria das artérias oftálmicas .....	41
<b>3.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	44
<b>4.</b>	<b>PACIENTES E MÉTODOS</b> .....	45
4.1	Pacientes.....	45
4.2	Aspectos Éticos .....	46
4.3	Métodos .....	46

4.3.1 Dopplerfluxometria das artérias uterinas .....	47
4.3.2 Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial .....	47
4.3.3 Dopplerfluxometria das artérias oftálmicas .....	49
4.4 Análise estatística .....	50
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>51</b>
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>58</b>
<b>7. CONCLUSÕES.....</b>	<b>63</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>64</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>75</b>
Anexo A - Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais .....	75
Anexo B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	76

## 1. INTRODUÇÃO

O primeiro contato que tive com a pesquisa científica se deu no quinto período do curso de graduação em Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), quando procurei os coordenadores do serviço de Medicina Fetal com o objetivo de me inserir no grupo, que já me despertava grande interesse acadêmico. Ingressei primeiramente como voluntária no Programa de Iniciação Científica do Centro de Medicina Fetal (CEMEFE) do Hospital das Clínicas da UFMG, no projeto de Uropatias Fetais coordenado pela professora Alamanda Kfoury Pereira. Em um segundo momento, teve início no serviço o desenvolvimento de um projeto longitudinal para investigação de potenciais marcadores urinários de pré-eclâmpsia, sob orientação da professora Zilma Silveira Nogueira Reis. Passei a integrar sua equipe, e dessa forma comecei meu caminho na linha de pesquisa de Pré-eclâmpsia (PE), já com foco na identificação de instrumentos para predição da doença.

Apesar dos grandes avanços recentes na área de pesquisa básica e elucidação de diversos mecanismos envolvidos no desenvolvimento da PE, sua etiopatogênese ainda não foi completamente compreendida. E para que se viabilize a implementação de estratégias eficazes de prevenção primária, é essencial que haja um entendimento integral da doença pela comunidade científica.

Atualmente, o diagnóstico da PE é suspeitado pelas manifestações clínicas e confirmado através de exames, que muitas vezes se apresentam alterados apenas quando a doença já esta instalada e existe o comprometimento do feto e um grande risco para a gestante. Diversos marcadores até então estudados se mostraram incapazes de detectar a doença antes de seu estabelecimento. Muitos grupos de pesquisa têm voltado seu foco para a identificação de ferramentas que possibilitem a predição da PE, acusando um risco aumentado da doença nas suas fases iniciais. A seleção adequada de gestantes com alto risco de desenvolver PE poderia constituir a base para a aplicação de intervenções terapêuticas ainda no primeiro trimestre, com eficácia potencialmente superior às instituídas no segundo trimestre para prevenção das formas graves e complicações. Para que se possa investigar a hipótese de que essas intervenções mais precoces mostrem resultados superiores na prevenção da doença, é necessário que se estabeleça um método eficaz de identificação oportuna das pacientes de risco.

A identificação do grupo de risco tem o potencial de reduzir as taxas de morbidade e mortalidade materno-fetais associadas à PE, que ainda atingem patamares inaceitáveis, sobretudo nos países em desenvolvimento. Isso possibilitaria um

seguimento pré-natal diferenciado, com consultas mais freqüentes, cuidado individualizado e planejamento do parto em momento oportuno, em centro de atenção terciária. Tais estratégias são críticas para a otimização dos resultados maternos e perinatais. No Reino Unido, os guidelines do *National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE)* sobre assistência pré-natal já recomendam que o risco de PE para cada gestante deve ser determinado à primeira consulta, com base em um algoritmo incluindo vários fatores de sua história clínica. A freqüência de consultas e os cuidados pré-natais adequados devem ser estabelecidos com base nesse risco individualizado [RCOG 2008].

Métodos biofísicos de avaliação de pontos centrais da fisiopatologia da doença - perfusão uterina, disfunção endotelial e hiperfluxo central - parecem particularmente promissores para predição da doença. Estudos dopplerfluxométricos das artérias uterinas, artérias oftálmicas e dilatação fluxo-mediada da artéria braquial demonstraram alterações significativas nos padrões de fluxo sanguíneo em mulheres acometidas pela PE [Poon *et al* 2009, Cockell & Poston 1997, Hata *et al* 1997].

Em nosso serviço, a linha de pesquisa em Pré-eclâmpsia é dotada de grande tradição, contando com diversas publicações relevantes em âmbito nacional e internacional, trabalhos apresentados em congressos, dissertações de mestrado e teses de doutorado. A avaliação da função endotelial pelo exame de dilatação fluxo mediada da artéria braquial, em particular, conta com considerável acervo de trabalhos, tendo sido investigada em pacientes acometidas por PE e diabetes mellitus gestacional (DMG), gestantes portadoras do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e pacientes em uso de terapia de reposição hormonal pós-menopausa [Guimarães *et al* 2014, Hurtado *et al* 2015].

No presente estudo foi realizada uma avaliação longitudinal de pacientes de alto risco para o desenvolvimento da PE, com investigação da perfusão placentária, da função endotelial e do fluxo sanguíneo central em três fases distintas do ciclo gravídico. Essa avaliação foi realizada por meio de testes biofísicos, visando à compreensão do comportamento desses parâmetros em gestações posteriormente complicadas pela PE, em comparação com gestações que permaneceram saudáveis. O objetivo principal foi a investigação desses métodos como potenciais preditores da doença em nosso meio.

A capacidade de predição tem importância relevante na abordagem da PE, em particular no grupo de pacientes acometidas pela forma grave da doença. Esses casos, sobretudo se a instalação for anterior à 34ª semana de gestação, estão associados aos piores desfechos materno-fetais. Para atingir esse objetivo, a aplicação combinada de

métodos biofísicos parece ter eficácia superior em comparação com a avaliação individual por apenas um dos exames [Takata *et al* 2002].

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Pré-eclâmpsia: considerações gerais

As desordens hipertensivas da gravidez persistem como uma das principais complicações obstétricas em todo o mundo, respondendo por cerca de 62.000 a 77.000 mortes maternas por ano. Na América Latina, respondem por um quarto das mortes maternas, sendo que a maioria delas poderia ser evitada pela provisão de assistência oportuna e efetiva às gestantes [WHO 2011]. A PE é uma entidade clínica particularmente temida, em função de seu alto potencial de morbimortalidade e de sua alta taxa de incidência – complica até 7% das gestações consideradas de baixo risco, levando a casos de *near miss* e a números significativos de óbitos maternos e perinatais [Abalos *et al* 2014]. Em gestações de alto risco sua incidência chega a 20% [Magee *et al* 2008].

Os mecanismos fisiopatológicos que desencadeiam os sintomas de PE ainda não foram completamente elucidados, e a etiologia da síndrome permanece incerta. Diversas possibilidades foram formuladas ao longo dos anos, caracterizando a PE como a doença das múltiplas teorias. A mais amplamente aceita determina que uma falha no processo de placentação, nas fases iniciais da gestação, cria um ambiente hipóxico localizado, o que tem como resposta fisiológica a liberação de diversos fatores na circulação materna, incluindo espécies reativas de oxigênio (ROS) [Roberts & Gammil 2005]. Segue-se um estado de inflamação generalizada, com lesão progressiva ao endotélio vascular da gestante. Somente então, a partir da segunda metade da gestação, as manifestações clínicas começam a se instalar, sendo a primeira delas a elevação dos níveis pressóricos. Posteriormente tem-se a injúria ao endotélio renal, que leva a endoteliose glomerular e proteinúria [Myatt & Webster 2009]. Quando o leito vascular do sistema nervoso central (SNC) tem seu endotélio comprometido, a capacidade da barreira hematoencefálica de gerenciar o hiperfluxo sanguíneo é perdida, resultando em edema cerebral. O aumento na pressão do citoplasma neuronal desencadeia as convulsões que caracterizam a eclâmpsia [Young *et al* 2010].

Métodos de avaliação clínica desses processos são de grande interesse na prática médica, pois permitem o monitoramento do desfecho pré-eclâmpsia e até mesmo a predição do início de suas manifestações clínicas. A avaliação da perfusão placentária é rotineiramente realizada através do estudo dopplerfluxométrico das artérias uterinas, e durante essa análise um aumento no índice de pulsatilidade das artérias uterinas (IP-AUt) demonstrou ser o preditor mais confiável de PE, dentre os parâmetros do

Doppler [Onwudiwe *et al* 2008, Plasencia *et al* 2008]. Para a análise da função endotelial, a dilatação fluxo-mediada (DFM) da artéria braquial quantifica a alteração no calibre arterial secundária a um estímulo hipóxico, podendo ser de grande valor clínico [Harris *et al* 2010]. O fluxo de perfusão do SNC pode ser indiretamente avaliado pela dopplerfluxometria das artérias oftálmicas. O índice de resistência das artérias oftálmicas (IRAIO) tem sido o parâmetro mais utilizado em estudos, pois é o que melhor reflete as condições hemodinâmicas centrais [Barbosa *et al* 2010].

Apesar da publicação anual de milhares de estudos investigando a PE, algumas questões fundamentais permanecem sem resposta, e controvérsias relevantes permeiam a determinação do diagnóstico, métodos de *screening*, classificação e manejo clínico da PE. Seria mesmo uma única doença? A predição acurada por um conjunto de parâmetros é verdadeiramente possível? Se o diagnóstico for suficientemente precoce, a prevenção é viável? Em caso afirmativo, quais seriam as estratégias preventivas eficazes? Seria possível reverter um processo que provavelmente se inicia nas fases precoces de invasão e diferenciação do trofoblasto?

Até o momento não foi identificado um biomarcador único com potencial utilidade clínica para a predição da PE. A presença da doença é presumida apenas pela detecção das manifestações clínicas, como hipertensão e proteinúria. Essas alterações aparecem quando a doença já está estabelecida, inviabilizando a adoção de medidas para prevenir seu desenvolvimento e suas temidas complicações. Considerando a precedência cronológica dos eventos fisiopatológicos que desencadeiam a PE em relação às suas manifestações clínicas e a disponibilidade de testes para sua detecção e avaliação, é razoável assumir que eles possam representar uma ferramenta promissora para a predição da doença e para a prevenção de suas principais complicações.

Estratégias preventivas foram amplamente estudadas, e há evidência suficiente para embasar a recomendação de doses diárias de ácido acetilsalicílico e a suplementação de cálcio em áreas onde a ingestão dietética for insuficiente para gestantes com alto risco de desenvolver a doença [von Dadelszen & Magee 2014, WHO 2011]. A aplicação de intervenções terapêuticas precoces tem eficácia potencialmente superior às instituídas no segundo trimestre, razão pela qual os esforços atualmente se concentram na identificação de marcadores não invasivos para a predição acurada da PE no primeiro trimestre de gestação [Roberge *et al* 2012]. O maior potencial de melhora dos resultados materno e fetal tem sido atribuído a estratégias de monitoramento pré-natal baseado no risco individual de cada paciente para o desenvolvimento de PE, com consultas mais frequentes em pacientes de alto risco e intervenção oportuna [RCOG 2008].

## 2.2 Características clínicas

As controvérsias que caracterizam o entendimento da síndrome PE manifestam-se também em sua definição clínica. Sumariamente, a PE é entendida como uma desordem hipertensiva da gestação caracterizada pela presença de hipertensão e proteinúria estabelecidas após a 20ª semana de gestação. Apesar de avanços na compreensão da doença, as definições atuais permanecem substancialmente inalteradas.

Os critérios diagnósticos mais aceitos atualmente foram propostos pelo *National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy (NHBPEPWG)* no ano 2000:

- Hipertensão arterial – pressão arterial sistólica > 140 mmHg ou pressão arterial diastólica > 90 mmHg após 20 semanas de gestação, em mulher previamente normotensa.
  
- Proteinúria - excreção urinária de proteínas  $\geq$  0,3 gramas em 24 horas

A proteinúria é tradicionalmente reconhecida como o critério adicional mais relevante depois do aumento dos níveis pressóricos, mas publicações recentes propõem que seja revista como parâmetro mandatório para o diagnóstico. Sociedades científicas da Austrália e Canadá já apresentam definição da PE como hipertensão após a 20ª semana de gestação não necessariamente acompanhada de proteinúria, mas incluindo novos parâmetros maternos e fetais (um ou mais), como presença de insuficiência renal, disfunção hepatocelular ou crescimento intrauterino restrito (CIUR) [South Australian Perinatal Practice Guidelines 2010, Magee *et al* 2008].

Como é característico das síndromes, não existe uma definição única que possa ser considerada como padrão ouro em todas as situações. São descritos inclusive casos de PE sem aumento de níveis pressóricos, porém com fisiopatologia placentária semelhante à da PE clássica. Tanto a eclâmpsia como a síndrome de hemólise, elevação de enzimas hepáticas e plaquetopenia (HELLP), complicações temidas da doença, podem ocorrer sem a detecção premonitória de hipertensão e proteinúria [Sibai 2004].

A cadeia de eventos fisiopatológicos que conduzem à síndrome clínica se inicia com a hipóxia placentária resultante do remodelamento incompleto das artérias uterinas espiraladas, que aumentam o estresse oxidativo no ambiente placentário. Isso leva à liberação de fatores na circulação materna - receptor de VEGF do tipo 1 solúvel (sFlt-1), endoglin solúvel (sEng), citocinas pró-inflamatórias e debris trofoblásticos -, o que

conduz a uma resposta inflamatória sistêmica no organismo materno, com conseqüente lesão endotelial generalizada. Cada uma das manifestações clínicas da PE pode ser atribuída à disfunção do endotélio vascular nos diversos órgãos-alvo. Como exemplos, a redução da capacidade de vasodilatação leva à hipertensão, e o aumento da permeabilidade endotelial causa injúria nos vários órgãos acometidos: proteinúria, cefaleia e distúrbios visuais no SNC, dor abdominal associada à congestão hepática, dispneia secundária a edema pulmonar, convulsão eclâmpica devido ao vasoespasmo cerebral [Cudihy & Lee 2009].

Complicações que despertam particular preocupação são a síndrome HELLP e a eclâmpsia, sendo ambas consideradas preditores importantes de disfunção orgânica progressiva e do risco elevado de óbito materno. A síndrome HELLP está presente em até 20% dos casos de PE grave e é caracterizada por lesão endotelial generalizada e significativa. Assim como a PE em sua forma grave, associa-se a risco aumentado de desfechos adversos, incluindo descolamento prematuro de placenta, insuficiência renal, hematoma hepático subcapsular, PE recorrente, parto prematuro, óbito fetal ou materno. A eclâmpsia, por sua vez, é caracterizada pela ocorrência de convulsões tônico-clônicas generalizadas não atribuíveis a outras causas, sendo encontrada em 5 a 8% das gestantes acometidas pela PE [ACOG 2002, Steegers *et al* 2010].

O estudo PIERS (*Preeclampsia Integrated Estimate of Risk*), um grande estudo prospectivo multicêntrico internacional, acompanhou 2023 gestantes com diagnóstico de PE para avaliar a predição do risco de mortalidade materna e outras complicações graves. Foram consideradas 54 variáveis independentes que podem ser acessadas nas primeiras 48 horas após a admissão hospitalar por PE. Idade gestacional, dor precordial ou dispneia, saturação de oxigênio, contagem plaquetária, concentração sérica de creatinina e de aspartato aminotransferase (AST) foram capazes de predizer satisfatoriamente a ocorrência de desfecho materno adverso em período de até 7 dias. O algoritmo não detectou correlação significativa entre esse risco e a presença dos sintomas clínicos clássicos de PE [von Dadelszen *et al* 2011].

### **2.3 Classificação**

A PE é uma desordem heterogênea e de patogênese não elucidada, o que dificulta uma classificação precisa que seja capaz de refletir a complexidade de seu mecanismo patogênico. No entanto, a caracterização da doença em subtipos tem o potencial de melhorar o seu entendimento e manejo clínico. A mais tradicional categoriza a PE de

acordo com a gravidade de suas manifestações, em doença leve ou grave [von Dadelszen *et al* 2003].

De acordo com *guidelines* internacionais, níveis pressóricos acima de 140 x 90 mmHg, com proteinúria de 0,3 a 3 gramas em 24 horas, caracterizam doença leve. A PE é em geral considerada grave na presença de hipertensão grave, proteinúria significativa ou disfunção materno-fetal. Os critérios mais utilizados para essa definição incluem: pressão arterial (PA) igual ou superior a 160 x 110 mmHg (em duas ocasiões, com intervalo de quatro horas entre as medidas), proteinúria superior a 3-5 g em 24 horas ou 3+ em amostra única, oligúria (diurese inferior a 500 ml em 24 horas), distúrbios neurológicos (cefaleia, alterações visuais, hiperreflexia patelar), dor no quadrante superior do abdome ou região epigástrica, edema agudo de pulmão, aumento dos níveis séricos de creatinina, plaquetopenia ( $< 100.000/\mu\text{L}$ ), alterações de enzimas hepáticas, CIUR ou oligodrâmnio. Nos casos de PE grave podem advir complicações como eclâmpsia, acidente vascular cerebral, síndrome HELLP e coagulação intravascular disseminada [South Australian Perinatal Practice Guidelines 2010, NHBPEPWG 2000].

Essa classificação apresenta algumas limitações. Primeiramente, baseia-se na ocorrência de hipertensão e proteinúria, sendo que, isoladamente, nenhum dos dois critérios demonstrou ser bom preditor do resultado materno ou fetal adverso em gestações complicadas pela hipertensão [Zhang *et al* 2001, von Dadelszen *et al* 2011]. A predição do resultado gestacional, nestes casos, carece de marcadores adicionais. Além disso, a idade gestacional à apresentação não é considerado um critério para gravidade e prognóstico, sendo que é provavelmente a variável clínica de maior relevância para predição do desfecho materno e perinatal [von Dadelszen *et al* 2003].

O entendimento de que o momento do surgimento das manifestações da PE apresenta impacto prognóstico significativo levou à formulação de uma classificação alternativa, que tem sido amplamente empregada em publicações científicas. Segundo essa proposta, a PE é categorizada em precoce ou tardia, o que parece ser um referencial clínico que caracteriza adequadamente duas entidades distintas, refletindo mecanismos etiopatogênicos que se iniciam em momentos diferentes da gestação [Reis *et al* 2010].

A PE tardia, com início a partir da 34ª semana gestacional, corresponde à maior parte dos casos, e é geralmente associada a uma placentação adequada ou levemente comprometida. Está mais associada a fatores constitucionais maternos, caracterizando-se por ausência ou leve resistência ao fluxo nas artérias uterinas, menor comprometimento do crescimento fetal e resultados perinatais mais favoráveis [Huppertz 2008]. Apesar de sua menor associação com disfunção placentária, não deve

ser considerada como uma forma benigna, pois até 20% dos casos são complicados por HELLP síndrome, e 55% dos casos de eclâmpsia ocorrem em gestações a termo [Sibai *et al* 1993].

Dekker *et al* [1995] propuseram de forma pioneira a utilização do termo *early-onset* para a pré-eclâmpsia diagnosticada antes de 34 semanas de gestação, sugerindo uma abordagem e aconselhamento diferenciados para este grupo, em função de um prognóstico mais reservado. A PE de início precoce é menos freqüente, mas associa-se à forma clinicamente mais grave, refletindo lesões isquêmicas placentárias mais profundas e disfunção endotelial mais intensa, com comprometimento sistêmico pronunciado. Seu componente genético é mais acentuado, com uma maior taxa de recorrência, sendo o seu prognóstico mais sombrio para a gestante e seu concepto [Roberts & Catov 2008]. As taxas de mortalidade materna chegam a ser até 20 vezes maiores em gestações complicadas pela PE abaixo de 32 semanas [von Dadelszen *et al* 2003]. A restrição do crescimento intrauterino está presente na maioria dos casos, assim como anormalidades ao estudo de dopplerfluxometria das artérias uterinas. Marcadores fisiopatológicos são também distintos: fatores anti-angiogênicos são melhores preditores das formas de surgimento precoce da doença [Levine *et al* 2004].

Não há ainda um consenso sobre a classificação da pré-eclâmpsia quanto ao momento de seu surgimento na gestação. O critério mais freqüentemente usado para a diferenciação em precoce/tardia tem sido o corte em 34 semanas de gestação [Huppertz 2008, von Dadelszen *et al* 2003]. No entanto, existem evidências consideráveis de que a PE que se manifesta antes das 28 semanas de gestação está associada ao maior risco de recorrência e ao aumento mais significativo do risco de doença cardiovascular futura [Sibai *et al* 1991, Roberts 2001].

Staff *et al* sugeriram recentemente uma reclassificação da PE baseada na percepção de que a contribuição específica da placenta e dos fatores maternos para a instalação da síndrome parece ser variável. Segundo sua proposta, subtipos da doença poderiam ser definidos segundo as rotas fisiopatológicas que conduzem ao estágio de disfunção endotelial sistêmica, sendo formulados os conceitos de PE placentária e PE materna. No primeiro caso, ter-se-ia a interação entre uma placenta anormal e uma vasculatura materna saudável, enquanto no segundo caso uma placenta normal interage com anomalias subjacentes do ambiente vascular materno. Essa dicotomia simplista não acontece na maioria dos casos, e o que se tem é uma contribuição em proporções variáveis de ambos os fatores, com predomínio de um deles. Nos casos de PE tardia o componente placentário parece ser mais fraco, enquanto a PE precoce é considerada uma patologia primariamente placentária. Quando se tem uma associação clara e importante de ambos os processos, desenvolvem-se os casos mais graves de PE de surgimento precoce [Staff *et al* 2013].

Pelo exposto, infere-se que gestantes com manifestação precoce da doença representam um grupo mais homogêneo da doença, fornecendo informações mais precisas para a investigação das alterações encontradas na PE. Além disso, a predição precoce da doença parece ter campo mais promissor nesse grupo de pacientes. Em suas publicações, von Dadelszen *et al* [2003] e Roberts & Catov [2008] encorajam os pesquisadores a utilizar a dicotomização precoce / tardia em suas publicações, de modo a fornecer maior subsídio ao avanço do conhecimento sobre essa complexa entidade clínica.

## 2.4 Fatores de risco

Um caminho inicial interessante para o entendimento da patogênese da doença consiste na identificação das características em comum apresentadas pelas pacientes que a desenvolvem. Sabe-se que a PE é uma doença heterogênea, e o risco de desenvolvê-la está fortemente relacionado ao mecanismo subjacente ao fator presente e à sua gravidade. Os mecanismos que desencadeiam a síndrome em gestantes nulíparas, por exemplo, podem não ser os mesmos que aqueles que se desenvolvem em pacientes com história de PE prévia, doença vascular preexistente ou gestação múltipla. Em geral, o perfil de fatores de risco materno varia entre a PE precoce e a PE tardia, o que fortalece a ideia de que possam se tratar de duas patologias distintas [Sibai *et al* 2005, Poon & Nicolaidis 2014].

Condições que reconhecidamente aumentam o risco de desenvolvimento de PE incluem obesidade, hipertensão crônica, diabetes mellitus, hiperhomocisteinemia, aumento de androgênios e raça negra. Todos são fatores comuns para o risco de doença cardiovascular futura. As semelhanças entre aspectos fisiopatológicos da PE e da doença cardiovascular sugerem a relação entre essas duas condições, que é sustentada por estudos epidemiológicos com longos períodos de seguimento [Roberts & Gammil 2005]. Já está bem estabelecido que pacientes que tiveram gestações complicadas pela PE apresentam risco aumentado de desenvolver hipertensão arterial crônica (HAC), doença coronariana isquêmica e morte precoce por evento cardiovascular, em comparações com mulheres que se mantiveram normotensas durante as gestações, particularmente se houve parto prematuro e recém-nascido de baixo peso [Smith *et al* 2009].

Huppertz [2008] considera que as condições associadas a alto risco de desenvolvimento de PE se dividem em duas categorias: a) condições que promovem aumento da massa placentária (diabetes, gestação múltipla) ou de sua superfície

(anemia, hipóxia materna), e b) condições que alteram a resposta materna aos fatores liberados pela placenta, tornando a capacidade de *clearance* insuficiente. Já para Cudihy e Lee [2009] os fatores de risco podem ser agrupados em três categorias: a) características relacionadas à herança genética (materna e paterna), b) condições reconhecidamente associadas à disfunção endotelial e c) fatores relacionados à imunomodulação da invasão citotrofoblástica como base do desenvolvimento placentário.

Muitas dessas condições de risco já estão presentes no período pré-concepcional, podendo ser reduzidos pela otimização das condições maternas antes da gestação. Os principais fatores de risco pré-concepcionais estão listados na Tabela 1 [Barton & Sibai 2008].

**TABELA 1** - Fatores de risco para pré-eclâmpsia preexistentes à gestação

	<b>Risco reportado (%)</b>
Hipertensão crônica / doença renal	15-40
Diabetes mellitus pré-gestacional	10-35
Colagenoses	10-20
Trombofilia (adquirida ou congênita)	10-40
Obesidade / resistência insulínica	10-15
Idade maior que 40 anos	10-20
Exposição limitada ao esperma (inseminação com sêmen de doador, ovodoação)	10-35
História familiar de PE ou doença cardiovascular	10-15
Parceiro envolvido em gestação anterior complicada pela PE com outra mulher	2 vezes
Mulher nascida pequena para idade gestacional	1,5 vezes
Evento adverso em gestação anterior (CIUR, descolamento de placenta, decesso fetal)	2-3 vezes

A gravidade da doença preexistente exerce influência considerável sobre o risco de desenvolver PE. Pacientes portadores de HAC apresentam risco geral de desenvolver PE sobreposta de 25%. No entanto, essa taxa é reduzida para 15% em mulheres com hipertensão bem controlada no período pré-concepcional, e pode chegar a 50% nas que apresentam hipertensão grave e de difícil controle [Sibai 2002]. O mesmo se verifica para as pacientes com diabetes mellitus pré-gestacional – o risco de PE e eventos adversos depende da duração da doença, da presença de complicações vasculares e do controle glicêmico. A PE complica 10,8% das gestações de pacientes portadoras de diabetes com menos de 10 anos de evolução e ausência de

comprometimento microvascular. Em contrapartida, nos casos de nefropatia diabética a incidência de PE chega a 36% das gestações [Sibai *et al* 2000].

Dentre os fatores atualmente reconhecidos por aumentarem significativamente o risco de PE, a história pessoal da doença parece ser o mais relevante. O risco de recorrência depende, sobretudo, da presença de outros fatores associados e da idade gestacional em que se manifestou a doença na gestação anterior. Mulheres que tiveram gestações anteriores complicadas pela PE no segundo trimestre podem apresentar taxas de recorrência de até 65% [Barton & Sibai 2008]. Revisão sistemática de estudos controlados realizada por Duckitt & Harrington [2005] encontrou risco relativo (RR) de PE em gestante com história prévia de 7,19 (IC 95% 5,85-8,83), quando comparado a gestantes sem relato de PE anterior.

A predisposição genética da PE é outro aspecto que atrai muita atenção dos pesquisadores. A PE ocorre com frequência duas a cinco vezes maior entre mães, filhas e irmãs afetadas, em comparação com populações controle [Cooper *et al* 1993]. Sabe-se que a contribuição genética vem do genoma materno, mas genes fetais (paternos) também estão envolvidos [Esplin *et al* 2001]. Diversos polimorfismos em genes candidatos têm sido aventados, mas os resultados ainda são inconsistentes e apresentam pronunciadas divergências entre diferentes populações de estudo. Esses achados ressaltam a heterogeneidade da doença e sua herança multifatorial [Roberts & Gammil 2005].

Outros fatores de risco que merecem destaque são as doenças renais, colagenoses, síndrome dos anticorpos antifosfolípides, extremos de idade materna e o tempo prolongado entre gestações. Fatores relacionados à gestação incluem hidropsia / degeneração hidrópica da placenta (triploidias, trissomia do 13), gestação múltipla (maior risco quanto maior o número de fetos), doença trofoblástica gestacional e CIUR idiopático [Duckitt & Harrington 2005].

O tabagismo, por outro lado, atua como fator de proteção ao desenvolvimento da PE. Apesar de causar estranhamento, devido à presença de lesão endotelial associada ao tabagismo, esse conceito pode ser explicado pela redução da expressão de fatores anti-angiogênicos e pela propriedade angiogênica da nicotina. Gestantes tabagistas em geral apresentam maior área placentária, e estudo eletromicroscópico de placentas desse grupo de pacientes revelou densidade capilar aumentada. Essa alteração parece representar uma resposta adaptativa designada a aumentar a área de superfície disponível para as trocas gasosas, de modo a compensar a deficiência no transporte de oxigênio causada pelo monóxido de carbono [Sibat *et al* 1995].

## 2.5 Fisiopatologia: teorias

Apesar da ausência de consenso e de um entendimento completo da doença, a PE é atualmente definida como uma doença sistêmica do endotélio materno, resultante da invasão endovascular deficiente do citotrofoblasto nas arteríolas uterinas espiraladas. Dessa forma, a doença parece ser fundamentalmente derivada de um processo de má adaptação imunológica ao nível da interface materno-fetal em pacientes com maior susceptibilidade. Essa predisposição individual é tida como o resultado da interação entre uma tolerância materna insuficiente aos antígenos paternos e combinações desfavoráveis de receptores leucocitários maternos geneticamente determinados com antígenos fetais [Cudihy & Lee 2009]. A tolerância incompleta a um feto alogênico parece ser o mecanismo subjacente para a placentação inadequada [Redman & Sargent 2010].

As evidências acumuladas sustentam que seja a placenta, e não o feto, a origem do desequilíbrio sistêmico que culmina na síndrome da PE. Favorecem essa hipótese a maior incidência de PE em condições associadas a aumento da massa placentária (gestação múltipla, diabetes), a ocorrência de PE mesmo na ausência de feto (doença trofoblástica gestacional, puerpério) e a resolução da doença com o parto e subsequente retirada da placenta [Roberts & Gammil 2005, Huppertz 2008].

O modelo fisiopatológico de dois estágios proposto por Roberts & Gammil [2005] determina que a falha no processo de invasão trofoblástica e remodelamento das artérias uterinas espiraladas leva à constituição de uma circulação útero-placentária de alta resistência, com reduzida perfusão da placenta, hipóxia e aumento do estresse oxidativo. De alguma forma isso se traduz, mas não em todas as pacientes, na resposta inflamatória generalizada que caracteriza a síndrome clínica. As principais questões que se impõem são: a) por que a hipoperfusão placentária somente leva à PE em algumas mulheres e b) quais fatores são responsáveis pela ligação entre os dois estágios da doença.

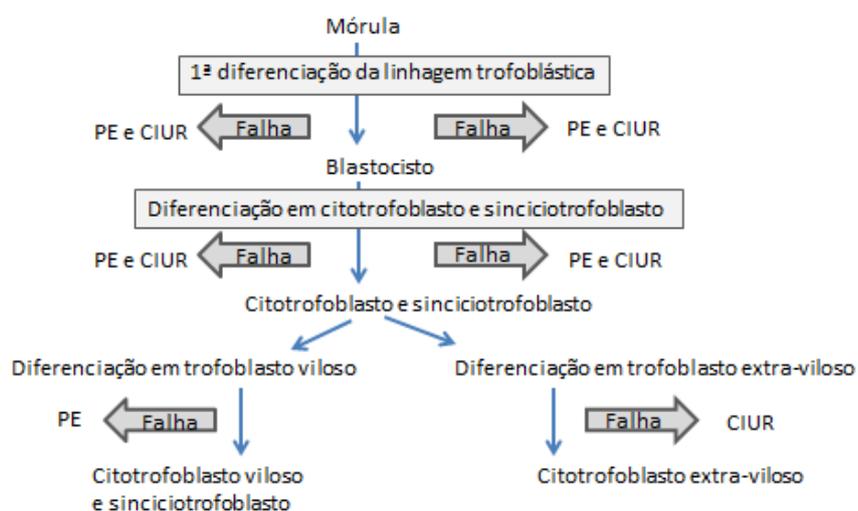
O conceito mais aceito e estudado atualmente é o de que a liberação de produtos placentários específicos na circulação materna ativa células inflamatórias circulantes, afetando a função endotelial e a perfusão tecidual de maneira sistêmica. Apesar do reconhecido papel crucial da placenta no desenvolvimento da PE, a instalação, gravidade e progressão da doença são alteradas significativamente por essa resposta materna aos fatores placentários liberados na circulação [Cabral *et al* 2009]. As alterações patológicas encontradas em necrópsias de mulheres com eclâmpsia demonstram sinais de profunda redução da perfusão em virtualmente todos os órgãos, incluindo o útero. Isso fortalece o conceito de que a disfunção endotelial seria

um evento central na fisiopatologia da doença [Roberts & Lain 2002, Savvidou *et al* 2000].

Nos estágios iniciais da gestação o embrião permanece em um ambiente de privação de oxigênio, o que estimula o desenvolvimento e a diferenciação trofoblástica. Somente a partir de 11-12 semanas as células do citotrofoblasto se ancoram à parede uterina e invadem o interstício da decídua materna, penetrando posteriormente nas artérias espiraladas. O fluxo sanguíneo materno para a placenta só é estabelecido, portanto, no início do segundo trimestre [Rodesch *et al* 1992]. Estudos demonstraram, no entanto, alterações nas concentrações séricas de marcadores já no primeiro trimestre, o que sugere que o desenvolvimento da PE remonte a estágios ainda mais iniciais da gestação [Huppertz *et al* 2008, Vatten *et al* 2007].

Huppertz postulou em 2008 que o estágio de diferenciação da linhagem trofoblástica comprometida seria o fator determinante do desfecho clínico. Alterações da diferenciação mais precoces, antes ou durante a fase de blastocisto, teriam repercussão mais grave, resultando na combinação de PE e CIUR. Defeito no processo de diferenciação restrito à via do trofoblasto viloso resultaria exclusivamente em PE, enquanto comprometimento da via do trofoblasto extra-viloso estaria associado a CIUR isolado, conforme demonstrado na Figura 1. A PE seria, portanto, resultado da falha na diferenciação do trofoblasto viloso, o que leva à liberação anômala de fragmentos apoptóticos placentários na circulação materna.

**FIGURA 1** – Esquema do desenvolvimento e diferenciação precoce da linhagem trofoblástica



Fonte: adaptado de Huppertz 2008

Essa teoria explica satisfatoriamente não apenas a alteração de marcadores séricos em fases precoces da gestação, como também a relação entre PE e CIUR, duas síndromes distintas que podem ou não estar associadas. Além disso, Huppertz levanta a hipótese de que ambas as formas de PE, precoce e tardia, culminam em um evento fisiopatológico comum: um processo inflamatório associado à disfunção endotelial materna sistêmica, seja por aumento na concentração de debris placentários na circulação materna (PE precoce) ou pela diminuição do *clearance* desses debris por comprometimento sistêmico materno prévio à gestação (PE tardia).

Apesar das alterações trofoblásticas precoces e da detecção de marcadores séricos já no primeiro trimestre de gestação, as manifestações clínicas da PE se instalam somente após a segunda metade da gravidez. Isso provavelmente ocorre devido à liberação significativamente menor de fatores placentários na circulação materna durante o primeiro trimestre, o que pode ser explicado não somente pelas reduzidas massa e superfície placentárias nessa fase, como também por diferenças no *turnover* trofoblástico [Huppertz 2008].

Estudos mais recentes encontraram evidência consistente de que alterações nos níveis circulantes de fatores angiogênicos desempenham papel fundamental na patogênese da doença. Alterações desses fatores podem ser evidenciadas antes dos sinais e sintomas da doença, e se correlacionam com sua gravidade e com a ocorrência de desfechos materno-fetais adversos. Isso levou à formulação da hipótese de que o desequilíbrio do balanço angiogênico (excesso de sFlt-1 ou sEng e redução do fator de crescimento placentário - PlGF) possa levar à disfunção endotelial, e nesse contexto as manifestações da PE poderiam ser atribuídas a um estado anti-angiogênico do organismo materno [Rana *et al* 2014, Powe *et al* 2011, Romero & Chaiworapongsa 2013].

Até o momento, nenhuma teoria isolada ou processo fisiopatológico foi capaz de explicar todos os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da PE. Muitos autores acreditam inclusive que possa se tratar de uma síndrome clínica comum a mecanismos fisiopatológicos substancialmente distintos.

## **2.6 Invasão trofoblástica e perfusão uterina na pré-eclâmpsia**

O evento primordial no desenvolvimento da PE parece estar na interface materno-fetal, e a placenta é reconhecida como determinante no desenvolvimento da doença. Esse papel fundamental atribuído à placenta pode ser entendido à luz da participação

do sistema imunológico materno no processo. A implantação bem sucedida e o desenvolvimento placentário saudável dependem de um papel ativo do sistema imunológico materno no sentido de estimular a invasão trofoblástica adequada – ao contrário da ideia comum, a gravidez normal não consiste simplesmente em um estado de relativa imunossupressão. Quando o processo de invasão das artérias uterinas espiraladas pelo trofoblasto viloso é deficiente, o remodelamento vascular não ocorre. Seguem-se hipóxia placentária e estresse oxidativo, que eventualmente desencadeiam disfunção endotelial generalizada e comprometimento da perfusão sistêmica [Cudihy & Lee 2009].

Na gestação normal, as células do citotrofoblasto invadem o interstício da decídua materna, penetrando nas artérias espiraladas e substituindo parcialmente o endotélio materno e a camada muscular média, além de destruir a inervação simpática vascular. Essas células possuem propriedades semelhantes às células cancerígenas metastáticas, tanto em suas características de invasão quanto em sua habilidade em induzir remodelamento vascular e facilitar a angiogênese. Durante a diferenciação normal, o trofoblasto invasivo sofre alteração na expressão de suas moléculas de adesão, que passam das características de células epiteliais para as de padrão celular endotelial - processo conhecido como pseudovasculogênese. Desse modo se constitui uma vasculatura híbrida, contendo células maternas e fetais, com vasos de maior diâmetro, mais flácidos e menos responsivos, independentes do controle vasomotor materno. Como consequência, tem-se um aumento significativo da perfusão placentária [Zhou *et al* 1997, Huppertz 2008].

As alterações adaptativas descritas acima, no entanto, estão reduzidas ou ausentes em gestações complicadas por PE, CIUR e alguns casos de parto prematuro. Nas gestações complicadas pela PE, a invasão das arteríolas uterinas espiraladas pelo citotrofoblasto é deficiente, e o remodelamento necessário à adequada perfusão placentária está incompleto ou ausente. Estudos demonstram que o trofoblasto obtido de mulheres com PE não apresenta as alterações fisiológicas de moléculas de adesão e pseudovasculogênese. As vias moleculares que regulam tais alterações envolvem uma vasta gama de fatores de transcrição, fatores de crescimento e citocinas, com destaque para o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), que se encontra diminuído nas pacientes que desenvolvem PE. O resultado é um fluxo sanguíneo reduzido para o espaço intervilososo, com a criação de um ambiente de hipóxia na placenta. O trofoblasto viloso sofre dano secundário à baixa oxigenação, e fragmentos de membrana do sinciotrofoblasto são liberados na circulação sanguínea materna. Esse seria o primeiro estágio do modelo fisiopatológico proposto por Roberts & Gammil [2005]. O evento secundário seria a resposta materna a essa placentação inadequada, que culmina em disfunção endotelial sistêmica e no desenvolvimento das manifestações clínicas da doença [Redman & Sargent 2005, Huppertz 2008].

### 2.6.1 Dopplerfluxometria das artérias uterinas

A dopplerfluxometria das artérias uterinas é um método de valor reconhecido para avaliação indireta da circulação uteroplacentária desde as fases iniciais da gestação, e tem sido considerado o método mais promissor para *screening* do risco de desenvolvimento de PE, CIUR, descolamento prematuro de placenta e óbito fetal. Um padrão anormal de Doppler em pacientes de alto risco apresenta forte correlação com um desfecho materno e/ou perinatal adverso [Poon & Nicolaides 2014].

Em gestações normais, a conversão das artérias espiraladas maternas em canais não musculares mais calibrosos e menos responsivos estabelece uma circulação uteroplacentária de baixa resistência ao fluxo. Gomez *et al* [2008], em estudo com 620 gestantes saudáveis, observaram redução progressiva da média do IP-AUt entre 11 e 34 semanas, com posterior estabilização até a 41ª semana. A comparação com valores de referência pode ter utilidade clínica no *screening* de doenças associadas à placenta no primeiro trimestre, bem como na avaliação de pacientes com hipertensão induzida pela gestação e/ou fetos pequenos para a idade gestacional durante o terceiro trimestre.

Estudos dopplerfluxométricos das artérias uterinas demonstraram que a impedância ao fluxo encontra-se aumentada em gestações subsequentemente complicadas por distúrbios hipertensivos desde o primeiro trimestre. Esse aumento é mais pronunciado em casos de PE precoce, caracterizados por lesões isquêmicas placentárias mais profundas. Yu *et al* [2005] reportaram índices de detecção da PE de 40% e 50% pelo doppler de artérias uterinas realizado na 12ª e 22ª semana de gestação, respectivamente (para uma taxa de 10% de falso-positivo). Considerando-se apenas os casos de PE precoce, as taxas de detecção chegaram a 80% e 85% para as referidas idades gestacionais.

Em estudo com 6015 gestantes submetidas ao *screening* com Doppler de artérias uterinas entre 11+0 e 13+6 semanas, Plasencia *et al* [2007] encontraram taxa de detecção de 82% para PE precoce e 31% para PE tardia, endossando o maior valor do método para os casos de doença manifesta antes da 34ª semana. Esse achado é concordante com estudos de patologia que demonstraram que a prevalência de lesões placentárias em mulheres afetadas pela PE é inversamente proporcional à idade gestacional ao parto [Moldenhauer *et al* 2003]. Posteriormente, o mesmo grupo de pesquisadores elaborou uma proposta de modelo para o cálculo do risco específico de desenvolvimento de PE incluindo, além dos fatores maternos (demográficos e clínicos) e do Doppler de artérias uterinas, a razão entre o IP-AUt entre 21+0 e 24+6 semanas e o IP-AUt entre 11+0 e 13+6 semanas em pacientes consideradas de alto risco na

primeira avaliação. Isso aumentou significativamente o poder de predição, que foi de 90,9% para a PE precoce, considerando-se uma taxa de 5% de falso-positivos [Plasencia *et al* 2008].

Uma metanálise recente analisou 18 estudos, com um total de 55.974 pacientes, para avaliar a acurácia do Doppler de artérias uterinas no primeiro trimestre para a predição de PE e CIUR. Um valor anormal de IP-AUt foi capaz de predizer a PE e a PE precoce com sensibilidade de 26,4% e 47,8%, respectivamente. Esses valores são comparáveis aos alcançados pelo *screening* baseado apenas em fatores de risco materno [Velauthar *et al* 2014].

Outro parâmetro freqüentemente utilizado no estudo dopplerfluxométrico é a avaliação da presença de incisura protodiastólica nas artérias uterinas, que se correlaciona com o desenvolvimento de PE e CIUR. Incisura bilateral é encontrada em 5% de gestações não selecionadas, das quais 40-50% serão complicadas por PE, CIUR ou ambos [Albaiges *et al* 2000]. Presença de incisura bilateral entre 11 e 14 semanas foi observada por Gomez *et al* [2006] em 66,7% das pacientes que posteriormente desenvolveram desordens hipertensivas. Entre 19 e 22 semanas, houve persistência da incisura em 61,1% das gestações complicadas por hipertensão, comparado com 20,6% de persistência em gestações saudáveis. Achados semelhantes foram descritos por Carbillon *et al* [2004].

Abordagens multifatoriais incluindo dados maternos, marcadores bioquímicos e biofísicos têm apresentado resultados mais promissores para a predição da doença. Em estudo com 8366 gestantes, Poon *et al* [2009] reportaram taxas de detecção de 89,2% para PE precoce e 57% para PE tardia, utilizando uma combinação de história materna, pressão arterial média e IP-AUt alterado entre 11 e 13 semanas, para uma taxa de 10% de falso-positivos. O mesmo grupo propôs ainda um algoritmo incorporando história materna, IP-AUt, pressão arterial média e dosagem sérica de proteína plasmática A associada à gravidez (PAPP-A) e PIGF, alcançando uma taxa de detecção de 93% para a PE precoce, com 5% de falso-positivos [Poon *et al* 2009].

## **2.6.2 Marcadores séricos de angiogênese**

A adequada síntese e ação dos fatores envolvidos no processo de angiogênese é crucial ao desenvolvimento normal da placenta e da gestação. Nos casos em que a invasão trofoblástica das artérias espiraladas ocorre de forma anômala, tem-se isquemia placentária e dano local, com conseqüente liberação de fatores na circulação materna. Dentre esses fatores incluem-se proteínas anti-angiogênicas (sFlt-1 e sEng) e

pró-angiogênicas (PIGF e VEGF), cujos níveis séricos estão alterados em mulheres acometidas pela PE [Myatt & Webster 2008].

Diversos marcadores bioquímicos de angiogênese foram aventados como potenciais preditores de PE nos últimos anos. Grande destaque foi dado ao VEGF, produzido em resposta a hipóxia tecidual e dano às células endoteliais, e que apresenta papel crucial na promoção da angiogênese. Estudos demonstraram redução nos valores séricos do VEGF em gestantes que desenvolveram PE, à apresentação da doença e mesmo antes do aparecimento das manifestações clínicas [Levine *et al* 2004, 2006].

O PIGF, membro da família VEGF produzido predominantemente na placenta, também tem sua concentração sérica diminuída em gestantes que desenvolvem a doença, sobretudo nas semanas anteriores à sua manifestação. Este tem sido considerado o marcador de angiogênese mais promissor para aplicação na prática clínica. O estudo multicêntrico PELICAN demonstrou que uma baixa concentração de PIGF livre (inferior ao percentil 5) foi capaz de confirmar o diagnóstico de PE com alta sensibilidade e alto valor preditivo negativo e, além disso, estratificar o risco em termos de tempo até a necessidade de interrupção da gestação [Chappell *et al* 2013]. Staff *et al* [2013] propuseram inclusive uma reclassificação da PE que utiliza níveis séricos reduzidos de PIGF como biomarcador para definir os casos de PE originada predominantemente pela hipoperfusão placentária.

Fatores anti-angiogênicos também foram estudados, sendo encontrada maior associação com a PE. O sFlt-1 se liga aos potentes angiogênicos VEGF e PIGF circulantes, impedindo sua interação com receptores endógenos e antagonizando seus efeitos, induzindo um estado anti-angiogênico. Sua administração exógena a ratas grávidas foi capaz de induzir albuminúria, hipertensão e endoteliose glomerular. Levine *et al* [2004] avaliaram a concentração sérica de fatores angiogênicos ao longo da gestação e demonstraram elevação de sFlt-1 cerca de 5 semanas antes do aparecimento das manifestações clínicas da PE. Essa alteração foi mais pronunciada em pacientes com a forma precoce da doença. Um aumento nos níveis circulantes de sEng no período de 2 a 3 meses antes do surgimento das manifestações de PE correlaciona-se com aumento da relação entre sFlt-1 e PIGF [Levine *et al* 2004, Maynard *et al* 2003]. As concentrações séricas aumentadas de sFlt-1 e sEng encontradas na PE, associadas a níveis reduzidos de PIGF e VEGF, são responsáveis pela criação de um desbalanço angiogênico que poderia contribuir para a exacerbação da resposta inflamatória característica da PE, levando à disfunção endotelial generalizada e aos sinais clínicos da síndrome [Staff *et al* 2013].

No entanto, os fatores angiogênicos demonstraram limitações significativas para sua aplicação clínica como preditores da PE: a) a alteração de seus níveis séricos ocorre

apenas algumas semanas antes da instalação de manifestações clínicas; b) valores alterados não são específicos da PE, sendo detectados também em casos de CIUR isolado; c) as taxas de detecção são conflitantes [Huppertz 2008]. Em estudo conduzido por Savvidou *et al* [2006], apenas 3 de 16 casos de PE foram detectados pela dosagem de sFlt-1 e VEGF entre 23 e 25 semanas de gestação. O sEng apresentou melhores resultados em estudos, com elevação sérica precedendo o aparecimento dos sintomas em 2 a 3 meses [Savvidou *et al* 2006, Levine *et al* 2004].

Novos biomarcadores com potencial capacidade de predição precoce da doença, ainda no primeiro trimestre, incluem a proteína placentária 13 (PP13), a PAPP-A e a pentraxina 3 longa. Huppertz *et al* [2008] demonstraram que a PP13 foi capaz de detectar casos de PE em idades gestacionais tão precoces quando 7 a 8 semanas. Em metanálise apresentada recentemente, o grupo inclusive propõe a PP13 como candidata a nova terapêutica farmacológica, baseado no princípio de que a reposição precoce da substância em gestantes com baixos níveis séricos poderia beneficiar o preparo da vasculatura para a gravidez [Huppertz *et al* 2013]. A dosagem isolada de PAPP-A, por outro lado, não se mostrou um método eficaz de predição, uma vez que apenas 8-23% das pacientes afetadas pela doença apresentavam níveis séricos abaixo do percentil 5 [Poon & Nicolaides 2014].

Uma aplicação emergente para os fatores angiogênicos é a estratificação de risco, permitindo avaliação da potencial morbidade e estimativa de tempo até indicação de interrupção em mulheres com diagnóstico de PE. Rana *et al* [2012] publicaram dados preliminares demonstrando que a razão plasmática sFlt-1 / PIGF à admissão hospitalar foi capaz de prever adequadamente eventos adversos em prazo de duas semanas, com performance superior aos parâmetros tradicionalmente utilizados (níveis pressóricos, proteinúria, dosagem de ácido úrico, alanina aminotransferase - ALT, plaquetas e creatinina). Chappell *et al* [2013] também reportaram resultados satisfatórios em estratificação de risco com a dosagem do PIGF.

Estudos recentes sugerem ainda a possibilidade de desenvolvimento de terapias específicas para a doença, direcionadas de acordo com a anomalia encontrada no perfil angiogênico. Substâncias que antagonizem a ação ou reduzam a produção do sFlt-1 ou que sejam capazes de aumentar os níveis de PIGF podem ser promissoras nesse contexto [Rana *et al* 2014].

## 2.7 Disfunção endotelial na pré-eclâmpsia

Durante a gestação normal ocorrem significativas alterações adaptativas vasculares e hemodinâmicas no organismo materno, com o objetivo primordial de aumentar o fluxo sanguíneo uterino e a disponibilidade de nutrientes para a unidade feto-placentária. O remodelamento das artérias uterinas espiraladas é essencial ao estabelecimento de um fluxo placentário adequado. A grande disponibilidade local de oxigênio eleva a produção de ROS, que têm papel relevante no desenvolvimento embrionário e na manutenção da gestação saudável [Yang *et al* 2012].

Em situações fisiológicas, a sinalização pelas ROS é regulada pelas defesas antioxidantes do organismo. Quando o balanço entre a capacidade antioxidante e a concentração das substâncias pró-oxidantes é quebrado, como ocorre na PE, tem-se o stress oxidativo [Myatt & Cui 2004]. A maioria dos fatores envolvidos com a lesão endotelial poderia contribuir ou ser estimulada pelo excesso de ROS na circulação materna, e há evidencia consistente da presença de stress oxidativo aumentado na PE. A gravidez é caracterizada por uma resposta inflamatória sistêmica, que se estabelece de forma exagerada nas mulheres que desenvolvem a PE. Sabe-se que o stress oxidativo é tanto causa como conseqüência da inflamação, e papel relevante tem sido atribuído ao seu aumento na ligação entre os dois estágios da doença [Roberts & Gammil 2005, Schulz *et al* 2011]. Isso levou à formulação da hipótese de que a redução do stress oxidativo pela suplementação de antioxidantes como vitaminas C e E poderia melhorar ou prevenir a disfunção endotelial na PE, no entanto estudos não mostraram benefício e essa abordagem tem sido desencorajada [Rumbold *et al* 2008, WHO 2011].

O débito cardíaco da gestante aumenta em 30 a 50%, e para acomodar esse aumento do volume sanguíneo ocorre queda significativa da resistência vascular periférica, com conseqüente queda dos níveis pressóricos [Robson *et al* 1989]. Sabe-se que o tônus vascular é determinado pelo balanço instantâneo entre diversas substâncias vasoativas. A reatividade do endotélio às substâncias vasoconstritoras do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) é reduzida para viabilizar essa adaptação, e vários mediadores estão implicados nesse processo. Há evidências consistentes sugerindo um papel central para a liberação maciça de óxido nítrico (NO), um potente vasodilatador endógeno, na queda da resistência vascular sistêmica característica da gestação [Williams *et al* 1997].

O óxido nítrico é produzido e armazenado exclusivamente no endotélio vascular, e os fenômenos descritos acima dependem de sua integridade. O NO é produzido pela enzima NO-sintetase (NOS) das células endoteliais a partir do aminoácido L-arginina. A atividade da enzima NOS é regulada por mediadores circulantes no plasma e por

estímulos locais. A hipoperfusão tecidual estimula a produção e liberação de NO pelo endotélio saudável, que atua diminuindo o tônus vascular para promover aumento da perfusão sanguínea, na tentativa de reverter a isquemia tecidual. Além de controlar a vasodilatação, o óxido nítrico também pode influenciar o nível de stress oxidativo pela formação de superóxidos na vasculatura placentária e materna, o que afeta a reatividade vascular [Brodzki *et al* 2008, Myatt & Webster 2008].

O SRAA exerce importante papel regulador da atividade da NO-sintetase endotelial. A angiotensina II atua nos receptores de angiotensina II subtipo 1 (AT1), inibindo a produção de NO e levando à vasoconstrição. Em contrapartida, a angiotensina 1-7 age no receptor *Mas* estimulando a produção de NO, promovendo vasodilatação e proteção endotelial secundária, uma vez que diminui o turbilhonamento do fluxo sanguíneo e a lesão física da parede vascular [Athar *et al* 2010].

O papel da desregulação do SRAA na instalação da lesão endotelial generalizada da PE também foi extensamente estudado. Sabe-se que em gestantes acometidas pela doença sua atividade encontra-se exacerbada, o que compromete a atividade da NO sintetase. Em 1999, Wallukat *et al* identificaram pela primeira vez a presença de auto-anticorpos agonistas do receptor de angiotensina II tipo AT1 (AT1-AA) em pacientes com PE, sendo que os mesmos estão ausentes em gestantes saudáveis. Esses auto-anticorpos poderiam produzir grande parte dos efeitos biológicos da angiotensina II na PE, contribuindo para o aumento periférico do tônus simpático, formação de superóxidos e lesão endotelial. Já foi demonstrado que os AT1-AA podem aumentar a produção de ROS [Dechend *et al* 2003] e induzir a liberação de cálcio pelas células endoteliais [Thway *et al* 2004]. AT1-AA isolados de pacientes acometidas pela PE foram inclusive capazes de induzir vasoconstrição de maneira dose-dependente em células endoteliais *in vitro* [Yang *et al* 2014]. Esses achados sugerem seu envolvimento na disfunção vascular encontrada na PE, podendo representar uma ligação entre pressão arterial elevada, lesão endotelial e hiperperfusão central na PE. A origem desses auto-anticorpos e uma correlação temporal clara com as características clínicas da doença, no entanto, ainda não foram demonstradas [Roberts & Gammil 2005, Lam *et al* 2005].

Outro regulador importante da síntese endotelial de NO é a dimetil-arginina assimétrica (ADMA), um inibidor endógeno da NOS que atua por mecanismo de competição pelo sítio de ligação do substrato L-arginina. É produzida pelas metiltransferases a partir de resíduos metilados de arginina, e sua metabolização é feita pela enzima dimetilamino-hidrolase (DDAH). Anderssohn *et al* [2012] demonstraram atividade da enzima DDAH placentária quase indetectável em gestantes com PE, sugerindo que essa poderia ser a causa da alteração dos níveis séricos de ADMA nessas pacientes.

Durante a gravidez normal, a concentração plasmática materna de ADMA apresenta declínio até a 24<sup>a</sup> semana, com posterior ascensão até as concentrações pré-gestacionais rumo ao termo. Essas alterações acompanham a queda inicial e posterior aumento do tônus vascular materno e dos valores pressóricos durante a gestação saudável [Holden *et al* 1998]. Savvidou *et al* [2003] demonstraram que altas concentrações de ADMA estão presentes em mulheres com alteração no doppler de artérias uterinas precocemente na gestação, e antes que as manifestações clínicas da PE se estabeleçam. Isso sugere que a ADMA possa ter um papel causal no desenvolvimento da disfunção endotelial característica da PE. Elevação de suas concentrações séricas foi demonstrada por Zheng *et al* [2015] desde o primeiro trimestre em mulheres que posteriormente desenvolveram PE, fortalecendo seu potencial como marcador preditivo da doença.

Após anos de pesquisa, alguns autores consideram a redução da biodisponibilidade de NO como sinônimo de disfunção endotelial. A lesão endotelial está bem estabelecida como evento central na fisiopatologia da PE. O endotélio disfuncional é incapaz de regular o tônus arterial e promover vasodilatação adaptativa adequada, e seguem-se hipertensão e proteinúria. A questão chave que se impõe consiste na identificação do elo entre a hipoperfusão placentária secundária à placentação inadequada e a lesão endotelial sistêmica. Uma vasta gama de marcadores de injúria ou disfunção endotelial está presente em mulheres acometidas pela PE mesmo antes das evidências clínicas da doença, o que sugere um papel causal para o estabelecimento da síndrome clínica [Savvidou *et al* 2000, Cabral *et al* 2009].

A maioria dos estudos sugere que produtos placentários produzidos em resposta à hipoperfusão seriam os responsáveis por desencadear a lesão endotelial. Essa ideia é fortalecida pela presença documentada de excesso de partículas microvilosas, produtos da apoptose do sincitiotrofoblasto, na circulação sistêmica de mulheres acometidas pela PE. Vários outros fatores são liberados concomitantemente nesse processo, incluindo partículas de membrana de leucócitos e plaquetas, ROS, neutrófilos ativados, citocinas, fatores de crescimento, fatores angiogênicos e hormônios. Essas substâncias seriam responsáveis por ativar células inflamatórias circulantes, promovendo uma resposta inflamatória generalizada que cursa com elevação nos níveis séricos de marcador de necrose tumoral (TNF) e Proteína C Reativa (PCR). O descontrole entre as substâncias angiogênicas e anti-angiogênicas parece ser um fator crucial para a propagação da lesão endotelial [Cabral *et al* 2009, Myatt & Webster 2008].

A utilização de marcadores séricos para avaliação indireta da disfunção endotelial é ainda limitada, sobretudo em função da baixa especificidade dos marcadores de inflamação sistêmica. Estudos mais atuais investigam a ADMA como potencial

biomarcador, mas ainda não há evidências consistentes para embasar sua aplicação clínica.

### **2.7.1 Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial**

A DFM da artéria braquial é um método de valor bem estabelecido para avaliação da função endotelial. Foi descrita pela primeira vez em humanos por Anderson & Mark, em 1989. O teste quantifica modificações no diâmetro da artéria braquial em resposta a um estímulo isquêmico transitório, que em indivíduos saudáveis ativa a liberação de óxido nítrico para promover uma vasodilatação compensatória e conseqüente aumento do fluxo sanguíneo local. Em pacientes com disfunção endotelial, essa dilatação está reduzida ou ausente. Por ser um exame não-invasivo e de relativo baixo custo, tem sido amplamente utilizado como um índice quantitativo da dilatação endotélio-dependente mediada pelo óxido nítrico. Possui boa reprodutibilidade e é de fácil aplicação na rotina clínica [Brandão *et al* 2010].

A técnica de realização do exame não é padronizada, o que é evidenciado pela grande variação encontrada nos valores absolutos de DFM relatados nos estudos. Ainda existem divergências consideráveis quanto a aspectos como pressão aplicada, local e tempo de compressão pelo manguito. Revisão da literatura realizada por Bots *et al* [2005] identificou que os aspectos técnicos das medições, a localização e a duração da oclusão podem explicar a variabilidade encontrada nos valores absolutos descritos nos estudos. O tipo de equipamento parece não exercer influência nos resultados, bem como pressão aplicada excedendo 250 mmHg. Torna-se imperativa, portanto, uma descrição pormenorizada do procedimento realizado nos estudos que avaliam a DFM, de modo a possibilitar a reprodutibilidade dos resultados obtidos.

Os resultados de DFM sofrem influência de múltiplos fatores, e apresentam alterações inclusive em situações fisiológicas. Durante o ciclo menstrual normal, a DFM aumenta significativamente nas fases folicular e lútea, quando os níveis séricos de estradiol são maiores [Hashimoto *et al* 1995]. Na gestação saudável, quando há maior liberação de óxido nítrico e conseqüente aprimoramento da função endotelial, também se verifica valores aumentados de DFM, principalmente a partir do segundo trimestre [Sierra-Laguado *et al* 2006]. O aumento da produção de óxido nítrico na gestação é possivelmente mediado por estrogênio, e esse conceito é fortalecido por estudos em mulheres pós-menopausa, com evidência de aumento da DFM após terapia de reposição estrogênica de curta duração [Hurtado *et al* 2015].

Savvidou *et al* [2000] reportaram valores de DFM em gestantes saudáveis significativamente maiores (38%) entre 10 e 30 semanas, em comparação com mulheres não-grávidas. A partir da 30ª semana, a DFM apresenta queda progressiva até retornar ao padrão pré-gestacional. Essa redução da DFM no terceiro trimestre pode ser a simples consequência do aumento do diâmetro basal do vaso nessa fase da gestação, baseada na hipótese de que a DFM é dependente do diâmetro basal do vaso, com artérias mais calibrosas respondendo menos ao estímulo [Celermajer *et al* 1992]. Aumento nos valores de DFM a partir do primeiro trimestre também foi observado por Dorup *et al* [1999], porém seus achados revelaram DFM mais alta no terceiro trimestre (47% maior que valores de não gestantes), apesar do aumento do diâmetro basal do vaso. Essa discrepância poderia ser devida à amostra reduzida do segundo estudo citado, em comparação ao primeiro.

O comprometimento da função endotelial em situações patológicas se reflete em valores alterados de DFM. O endotélio lesado libera concentração inferior de NO, promovendo vasodilatação em proporção menor que a esperada. Celermajer *et al* [1992] demonstraram a presença de lesão endotelial em crianças e adultos com fatores de risco para aterosclerose, encontrando valores de DFM significativamente mais baixos nessa população. Há evidência consistente de que essa redução nos valores de DFM seja capaz de prever risco cardiovascular futuro em indivíduos saudáveis e em pacientes com doença cardiovascular diagnosticada [Green *et al* 2011, Inaba *et al* 2010].

A disfunção endotelial observada em pacientes com fatores de risco cardiovascular (HAC, diabetes mellitus, tabagismo, hipercolesterolemia) é tão significativa quanto à observada em pacientes que desenvolvem PE. Além de ser elemento crucial na fisiopatologia da doença, acredita-se que seja um mecanismo potencial na relação da PE com risco cardiovascular futuro [Weissgerber *et al* 2014]. Diversos estudos demonstram que gestantes acometidas pela doença apresentam valor de DFM mais baixo que pacientes normotensas [Guimarães *et al* 2014, Adali *et al* 2011]. Como na fisiopatologia da PE a lesão endotelial sistêmica é o fator responsável pela instalação posterior das manifestações clínicas, como a hipertensão arterial, é de se esperar que o acompanhamento longitudinal dos valores de DFM possa ter valor na predição da doença. Estudos já demonstraram valores significativamente reduzidos de DFM antes do aumento dos níveis pressóricos em pacientes que subseqüentemente desenvolveram pré-eclâmpsia [Takase *et al* 2003, Savvidou *et al* 2003, Brandão *et al* 2014]. Sibai *et al* [2000] demonstraram que valores reduzidos de DFM foram capazes de prever o desenvolvimento de PE em idades gestacionais tão precoces quanto 10 semanas, sugerindo que a deficiência da vasodilatação endotélio-dependente é mais provavelmente um fator causal que uma consequência da PE. A observação de que

mulheres com outras causas de disfunção endotelial (ex: diabetes) têm risco aumentado de desenvolver PE suporta essa afirmação.

## 2.8 Hiperfluxo central na pré-eclâmpsia

O papel das alterações hemodinâmicas centrais na PE ainda carece de definições exatas. Sabe-se que o envolvimento neurológico na PE preenche critérios para a síndrome de encefalopatia posterior reversível (PRES), que se manifesta clinicamente por cefaleia e alterações visuais. A presença desses sintomas, classicamente utilizada como parâmetro para avaliação da gravidade e progressão da doença, é o indicador mais acurado do risco de convulsões [Schwartz *et al* 2000].

Complicações cerebrais agudas, como eclâmpsia, hemorragia e edema cerebral são responsáveis por pelo menos 75% dos óbitos maternos associados à PE [Zeeman 2009]. Os mecanismos fisiopatológicos que levam a esse quadro, no entanto, permanecem em investigação. A teoria mais aceita estabelece que níveis pressóricos muito elevados excedam a capacidade de auto-regulação do fluxo pelas artérias cerebrais, levando à hiperperusão central. Esse mecanismo teria como objetivo manter a oxigenação de órgãos vitais ('centralização materna'), compensando o vasoespasmos característico da doença. Como consequência ao hiperfluxo, ocorre transudação para o interstício cerebral, principalmente na substância branca subcortical dos lobos parietocciptais. Tal localização sugere que territórios vasculares posteriores sejam especialmente susceptíveis ao dano. O edema cerebral resultante é causa direta das convulsões tônico-clônicas generalizadas que caracterizam a eclâmpsia [Nakatsuka *et al* 2002, Young *et al* 2010].

A constrição arteriolar sistêmica é provavelmente a alteração patológica mais significativa em pacientes acometidas pela doença, e envolvimento ocular é encontrado com frequência. Alguns autores propuseram que a PE estaria associada com elevações na resistência vascular orbital, em concordância com uma doença caracterizada pelo modelo de resistência vascular aumentada e hipoperfusão [Hata *et al* 1995]. No entanto, estudos posteriores observaram queda na resistência ao fluxo e aumento na perfusão orbital, achados que reforçam a hiperperusão central como evento chave na fisiopatologia da PRES [Diniz *et al* 2008, Takata *et al* 2002, Barbosa *et al* 2006].

### 2.8.1 Dopplerfluxometria das artérias oftálmicas

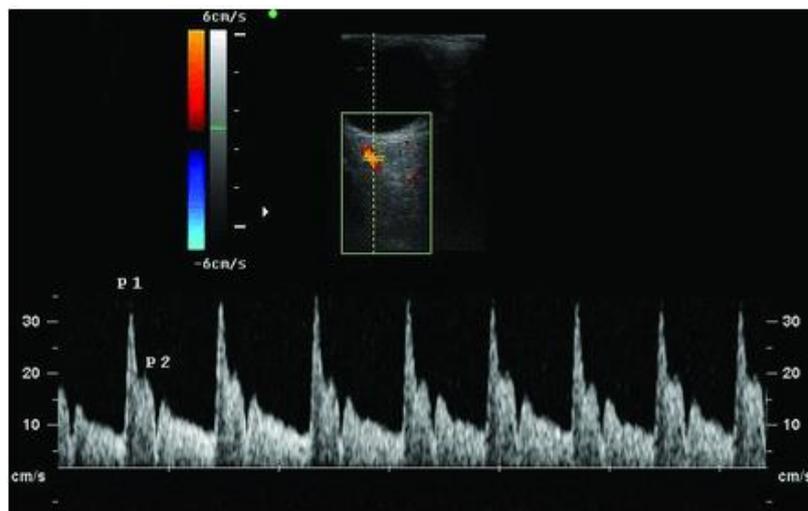
A avaliação da circulação central representa um desafio, e técnicas não invasivas como a dopplerfluxometria transcranial e de artérias oftálmicas têm sido amplamente utilizadas. A artéria oftálmica apresenta semelhanças embriológicas, anatômicas e funcionais com os vasos arteriolares do SNC, possibilitando uma análise fidedigna do status hemodinâmico da circulação intracraniana através de seu estudo dopplerfluxométrico [Silva *et al* 2011, Diniz *et al* 2008]. O primeiro estudo que avaliou o uso do Doppler de artérias oftálmicas em PE foi conduzido por Hata *et al* em 1992, que encontrou redução do índice de pulsatilidade (IP) nas pacientes acometidas pela doença. O mesmo grupo demonstrou posteriormente que a forma da onda e os parâmetros de fluxo das artérias oftálmicas não diferem entre gestantes hígdas e mulheres não grávidas, mas diferem consideravelmente em pacientes com PE, que apresentam maior velocidade de fluxo e menor IP e índice de resistência (IR) nesses vasos [Hata *et al* 1995]. Esses achados podem ser interpretados como vasodilatação orbital, indicando hiperperfusão e hiperemia. Pode-se inferir que alterações semelhantes estejam presentes em outros vasos cerebrais.

Diversos estudos apresentam achados concordantes, demonstrando parâmetros de fluxo de baixa resistência nas artérias oftálmicas de pacientes com PE, mais acentuado em casos PE grave [Diniz *et al* 2008, Takata *et al* 2002, Oliveira *et al* 2013]. Isso pode ser explicado pelo fato de o agravamento da doença levar à redução progressiva da resistência vascular central por vasodilatação, de modo a priorizar a perfusão do SNC. Barbosa *et al* [2006] reportaram inclusive valores mais baixos de IRAO em pacientes com PE e queixa de cefaleia, em relação às que não apresentavam esse sintoma. O mesmo grupo propôs posteriormente que o IRAO pode ser um preditor relevante da ocorrência de PRES, uma temida complicação da PE grave. Em estudo com 112 pacientes afetadas pela PE grave, foi constatada evidência clínica de PRES em 41%. Essas pacientes apresentaram IRAO significativamente reduzido em comparação às pacientes sem diagnóstico de PRES, sendo que a probabilidade de PRES aumentou progressivamente com a redução dos valores de IRAO. Pacientes com PE sobreposta a HAC apresentaram alterações semelhantes nos valores de IRAO [Barbosa *et al* 2010]. Contrariamente, em estudo conduzido por Ayaz *et al* [2003], pacientes que tiveram progressão para PE grave apresentaram aumento do IP e IRAO em relação à primeira medida. Essas diferenças, no entanto, poderiam ser explicadas pelo número reduzido de pacientes com a forma grave da doença nesse estudo (apenas três pacientes), o que limita a interpretação dos resultados.

Ainda não há consenso a respeito dos valores de referência para os parâmetros de fluxo orbital ao Doppler. Barbosa *et al* [2010] identificaram associação de valores de

IRAO menores que 0,56 com evidência clínica de PRES (OR 12,67; IC 95% 4,08 – 39,39;  $p < 0,0001$ ), sugerindo que o IRAO seja um potencial biomarcador de PRES em casos de PE grave. Em trabalho recente, Oliveira *et al* [2013] sugerem que o *peak ratio*, definido como a razão entre a velocidade de fluxo do segundo pico (após a incisura) e o pico de velocidade sistólica (Figura 2), seja o parâmetro dopplerfluxométrico mais adequado para a identificação de casos de PE grave. Segundo o grupo, valores de *peak ratio* inferiores a 0,78 estão associados a baixo risco de hiperfluxo central, permitindo a discriminação de pacientes com menor risco de complicações cerebrais e, portanto, candidatas a um manejo clínico mais conservador.

**FIGURA 2** – Representação ultrassonográfica do *peak ratio*, definido pela razão entre o pico 2 e o pico 1 (pico de velocidade sistólica)



Fonte: Oliveira *et al* 2013.

Atualmente, a definição dos casos de PE grave depende sobretudo da presença de níveis pressóricos elevados, proteinúria significativa e sintomas clínicos. A identificação de novos parâmetros para determinar os casos com potencial de gravidade é de importância primordial, possibilitando um acompanhamento mais intensivo dessas pacientes. A avaliação do padrão de fluxo na artéria oftálmica traz novas perspectivas nesse sentido. A identificação de hiperfluxo cerebral em pacientes com PE pode representar um relevante marcador de risco para hemorragia cerebral e eclâmpsia, grandes responsáveis pela mortalidade materna associada à PE. Sua aplicação é ainda útil para a realização do diagnóstico diferencial entre PE e hipertensão arterial crônica, uma vez que pacientes cronicamente hipertensas tendem

a apresentar resultados de IRAO semelhantes aos de gestantes normotensas [Oliveira *et al* 2013, Brandão *et al* 2012].

### 3. OBJETIVOS

Identificar o comportamento da perfusão placentária, da função endotelial e da perfusão central, utilizando respectivamente o Doppler das artérias uterinas (IP-AUt), o teste da dilatação fluxo-mediada (DFM) e o Doppler das artérias oftálmicas (IRAO), em gestantes com fatores de risco para desenvolvimento de pré-eclâmpsia, em três momentos distintos da gestação: 16+0 a 19+6 semanas, 24+0 a 27+6 semanas gestacionais e à admissão hospitalar para o parto.

Comparar os resultados obtidos entre o grupo de gestantes que desenvolveu pré-eclâmpsia precoce e o grupo de gestantes que permaneceram normotensas.

## 4. PACIENTES E MÉTODOS

### 4.1 Pacientes

A amostra do presente estudo foi selecionada a partir de um estudo prospectivo anteriormente realizado no serviço de Pré-natal de Alto Risco do HC-UFMG, defendido como tese de doutorado [Brandão 2012]. Foram recrutadas pacientes com fator de risco para o desenvolvimento de PE e que realizaram a primeira consulta de pré-natal de rotina entre 16+0 e 19+6 semanas de gestação, no período de janeiro de 2011 a janeiro de 2012. Desse grupo, foram selecionadas para este estudo 62 pacientes com fator de risco não diretamente relacionado à disfunção endotelial e que completaram o período de seguimento até o pós-parto. A distribuição de pacientes de acordo com o fator de risco apresentado encontra-se discriminada na Tabela 2.

**TABELA 2** - Fatores de risco apresentados pelas gestantes incluídas no estudo

<b>Fator de Risco</b>	<b>Número de pacientes (%)</b>
Hipertensão arterial crônica	12 (19,4)
Diabetes mellitus	9 (14,5)
História de PE em gestação anterior	18 (29)
Primípara	11 (17,7)
História familiar de PE (mãe ou irmã)	5 (8,1)
Índice de massa corporal (IMC) > 35 Kg/m <sup>2</sup>	4 (6,5)
Gestação múltipla	2 (3,2)
História de tromboembolismo venoso	1 (1,6)
<b>Total</b>	<b>62 (100)</b>

Foram excluídos do estudo: a) pacientes que se negaram a participar ou se recusaram a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), b) pacientes menores de 18 anos, c) casos de perda de seguimento.

## 4.2 Aspectos Éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais – ETIC 280/08, sendo respeitados todos os princípios de pesquisa em humanos (Anexo A).

Todas as pacientes acompanhadas participaram voluntariamente do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido após o esclarecimento dos objetivos da pesquisa, utilizando-se linguagem clara. O TCLE aplicado foi aprovado pelo COEP, e ressalta, entre outros, os objetivos do estudo, a segurança, o tipo de exame proposto e a não interferência da aceitação do estudo em relação ao acompanhamento no pré-natal (Anexo B).

## 4.3 Métodos

Pacientes foram submetidas à DFM da artéria braquial, dopplerfluxometria de artérias uterinas e dopplerfluxometria da artéria oftálmica em três momentos distintos da gestação: entre 16+0 e 19+6 semanas, entre 24+0 e 27+6 semanas e à admissão hospitalar para o parto. Todos os exames foram realizados pelo mesmo profissional do HC-UFMG, treinado e certificado em ultrassonografia. Após a consulta de pré-natal, as pacientes preenchem um questionário relativo a informações demográficas e dados do exame físico, e em seguida era aferida a PA e realizado o exame ultrassonográfico. Os resultados obtidos a partir do exame não tiveram qualquer influência na condução da paciente durante o acompanhamento pré-natal.

O diagnóstico de PE foi realizado de acordo com os critérios definidos pelo NHBPEPWG [2000]. Segundo essa classificação, a PE é definida como elevação da pressão arterial após 20 semanas de gestação (níveis pressóricos  $\geq 140 \times 90$  mmHg em duas medidas com intervalo de seis horas), acompanhada pela presença de proteinúria (1+ ou mais na medida de proteinúria de fita ou proteinúria 24 horas  $> 0,3$  gramas). A sobreposição de PE em pacientes com HAC foi considerada pela presença de um dos seguintes fatores:

- Elevações significativas da pressão arterial ( $> 160 \times 110$  mmHg);
- Proteinúria maciça (mais de 2,0 gramas em 24 horas);
- Aumento significativo de níveis pressóricos após período de bom controle;

- Creatinina sérica superior a 1,2 mg/dL.

O critério de classificação da PE adotado foi idade gestacional ao diagnóstico, que apresenta impacto prognóstico mais significativo. Desse modo, a doença foi categorizada nas formas precoce e tardia. Foram consideradas acometidas pela PE precoce pacientes que desenvolveram manifestações clínicas antes de 34 semanas de gestação. As pacientes com diagnóstico a partir da 34ª semana foram classificadas como portadoras de PE tardia e não foram incluídas neste estudo.

As informações sobre a evolução das gestações foram obtidas por meio de busca ativa nos prontuários e contato telefônico direto dos pesquisadores com as pacientes, sendo em seguida confeccionado um banco de dados para posterior análise estatística.

#### **4.3.1 Dopplerfluxometria das artérias uterinas**

A dopplerfluxometria das artérias uterinas foi realizada com a sonda convexa com 3,5 MHz de frequência. A insonação das artérias foi feita em seu terço proximal, com angulação máxima de 60°. O cálculo do IP das artérias uterinas foi feito a partir de uma onda similar a no mínimo três outras encontradas. A presença de incisura protodiastólica também foi observada. Esse processo foi repetido com a artéria uterina contralateral para cálculo do IP médio dos dois vasos, obtido por média aritmética simples. Todos os exames foram realizados por dois examinadores treinados do HC-UFMG.

#### **4.3.2 Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial**

A avaliação da dilatação fluxo-mediada da artéria braquial foi realizada utilizando-se equipamento ultrassonográfico com Doppler colorido (SonoAce<sup>®</sup> 8800 - MedsonCo, Ltd.), com sonda linear de 4 a 8 MHz. O exame foi realizado com a paciente em decúbito dorsal, após período de repouso de 15 minutos, seguindo-se a metodologia do *Guidelines da American Heart Association* [Ryan *et al* 2010]:

1. Identificação da artéria braquial medialmente, 1 cm acima da fossa antecubital do membro superior dominante;
2. Obtenção de imagem longitudinal da artéria braquial usando o modo B a aproximadamente 5 cm do cotovelo, no momento de distensão mínima do vaso. Isso

corresponde ao fim da diástole cardíaca, e a melhor imagem foi obtida através do resgate pelo cine loop do equipamento. A imagem foi então congelada para determinação da média de três medidas do calibre do vaso (D1).

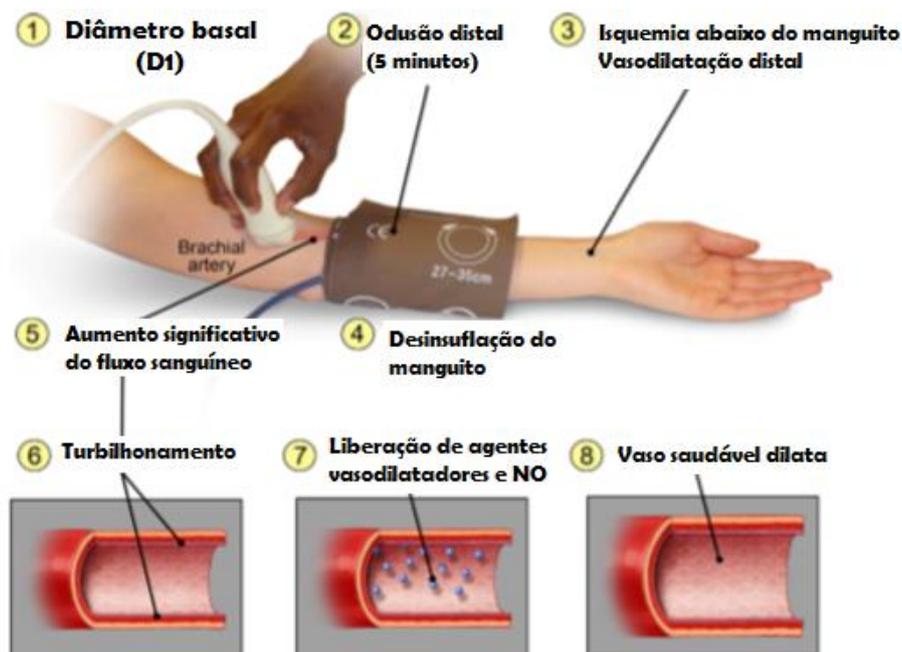
3. Posicionamento do manguito do esfigmomanômetro no antebraço, distalmente ao local de medida da artéria braquial. Insuflação do manguito até 250 mmHg e manutenção por 5 minutos.

4. Desinsuflação lenta do manguito e nova medida da artéria braquial após período de um minuto, com determinação da média de três novas medidas do calibre do vaso (D2).

O valor da DFM foi obtido com base na seguinte fórmula:  $DFM (\%) = [(D2 - D1)/D1] \times 100$ , onde D1 = diâmetro basal e D2 = diâmetro pós-oclusão. Todos os testes foram realizados pelo mesmo profissional do HC-UFMG, certificado em ultrassonografia.

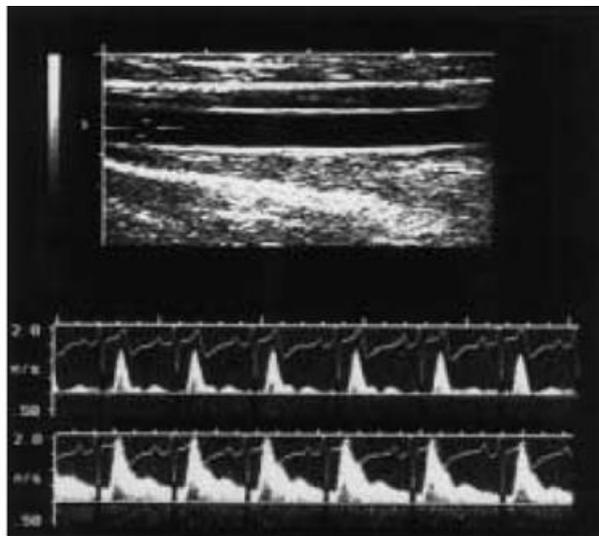
As Figuras 3 e 4 fornecem ilustrações do método utilizado para a realização do exame.

**FIGURA 3** – Representação esquemática da técnica de realização do exame de dilatação fluxo-mediada da artéria braquial



Fonte: adaptado de Weissgerber 2014.

**FIGURA 4** - Imagem ultrassonográfica da artéria braquial (painel superior) e das ondas do Doppler obtidas da artéria braquial em repouso (painel inferior, primeira imagem) e durante a hiperemia reativa (painel inferior, segunda imagem).



Fonte: Savvidou *et al* 2000.

### 4.3.3 Dopplerfluxometria das artérias oftálmicas

A dopplerfluxometria das artérias oftálmicas foi realizada por examinador treinado, utilizando-se aparelho ultrassonográfico com Doppler colorido (SonoAce<sup>®</sup> 8800 - MedsonCo, Ltd.), com transdutor linear de 7,5 MHz, aplicado sobre os olhos fechados e recobertos com gel de metilcelulose. Os exames foram realizados com a paciente em posição supina, com duração média de 5 minutos. Foi realizada uma avaliação completa dos vasos orbitários, com identificação da artéria oftálmica e seus ramos.

A dopplerfluxometria da artéria oftálmica foi realizada em seu ramo anterior, a aproximadamente 10 mm da parede posterior da esclera, em localização nasal em relação ao nervo óptico. O IRAO foi obtido do olho direito das pacientes, após um ciclo de pelo menos três ondas consecutivas similares.

#### 4.4 Análise estatística

O teste para normalidade de Shapiro-Wilk verificou a normalidade das variáveis numéricas contínuas. Para a análise descritiva de variáveis com distribuição normal, os resultados foram expressos na forma de média  $\pm$  desvio- padrão. Quando a variável não preencheu critérios de normalidade de distribuição, os resultados foram expressos na forma de mediana  $\pm$  intervalo interquartil.

Variáveis com distribuição normal foram submetidas ao teste t de Student para comparação entre os grupos de pacientes que desenvolveram ou não a PE. Para variáveis que não apresentavam distribuição normal utilizou-se o teste de Mann-Whitney para comparação.

O teste qui-quadrado de Pearson foi utilizado para comparação de variáveis categóricas entre os dois grupos.

Diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

As análises foram realizadas através do Software *Statistical Package for Social Sciences* - SPSS®19 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## 5. RESULTADOS

Do total de 62 pacientes que foram submetidas a todas as avaliações ultrassonográficas, 10 (16%) tiveram suas gestações complicadas pela PE precoce. Todas foram classificadas como portadoras de PE grave, sendo indicada a interrupção da gestação no momento do diagnóstico. Nos casos com indicação formal, respeitou-se o intervalo entre diagnóstico e interrupção necessário para a indução da maturação pulmonar com glicocorticóides.

As demais 52 pacientes se mantiveram normotensas, não tendo sido diagnosticadas com qualquer outra intercorrência gestacional até duas semanas após o parto.

As variáveis clínicas e resultados ultrassonográficos encontrados estão descritos a seguir. Valores marcados com ' \* ' foram obtidos através de teste t-student e expressos em média e desvio-padrão. Valores marcados com ' \*\* ' foram obtidos através de teste de Mann-Whitney e expressos em mediana, valores mínimo e máximo.

O grupo de pacientes que desenvolveu PE não diferiu do grupo de pacientes que se mantiveram normotensas quanto à idade, índice de massa corporal, número de gestações e idade gestacional (IG) às avaliações, conforme demonstrado na Tabela 3.

**TABELA 3** – Características clínicas e demográficas de pacientes normotensas e pacientes que desenvolveram pré-eclâmpsia precoce.

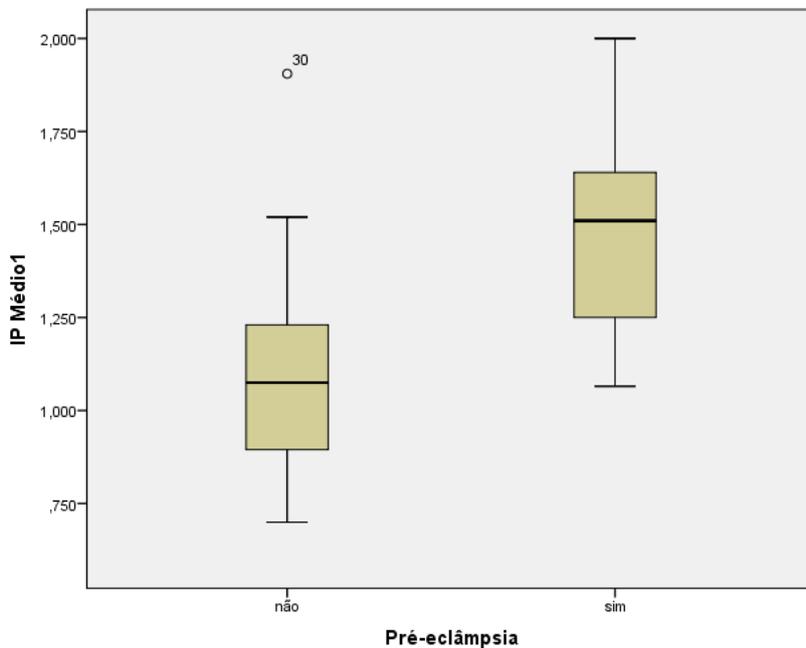
Variável	Grupo normotensas n = 52	Grupo PE n = 10	Valor p
Idade (anos)	28,4 ± 5,66	31,3 ± 3,89	0,060 *
Nº de gestações	2 (1 – 7)	3,5 (1 – 5)	0,201 **
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	23,2 (15,2 – 39,2)	24,6 (21,0 – 43,4)	0,730 **
IG no recrutamento (semanas)	17 (16 – 20)	17 (16 – 19)	0,742 **

Entre 16+0 e 19+6 semanas de gestação, o grupo de pacientes que posteriormente desenvolveu PE apresentou valor médio de IP-AUt significativamente mais alto, quando comparado ao grupo de pacientes normotensas [1,51 (1,07 – 2,00) x 1,08 (0,70 – 1,91);  $p=0,016$ ]. Não houve diferença entre os grupos quanto aos valores de PAM e DFM nessa primeira avaliação. Esses resultados estão expressos na Tabela 4 e nos Gráficos 1 e 2.

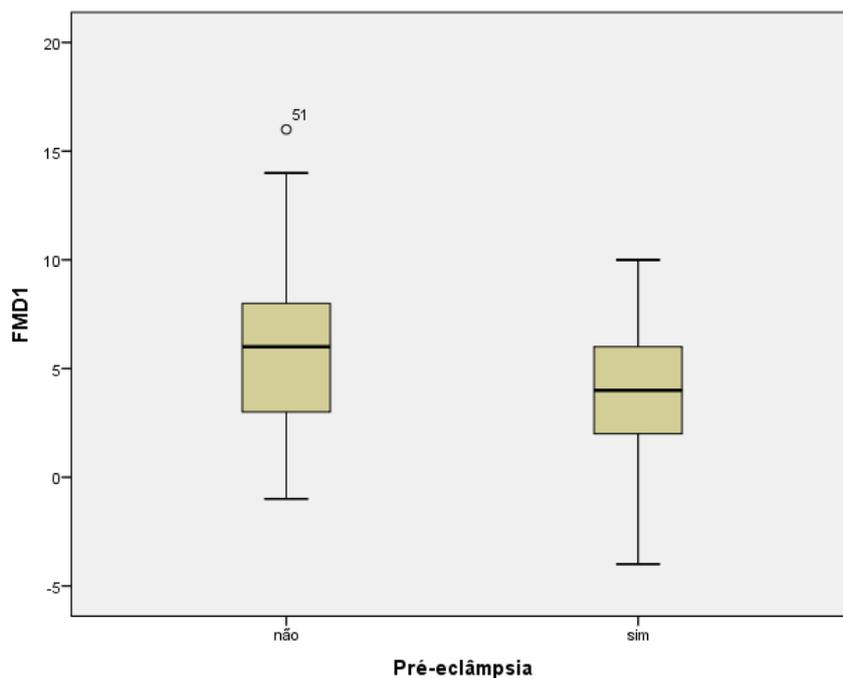
**TABELA 4** – Pressão arterial média (PAM) e resultados ultrassonográficos de IP médio e DFM de pacientes normotensas e pacientes que desenvolveram pré-eclâmpsia precoce, à avaliação entre 16+0 e 19+6 semanas.

Variável	Grupo normotensas n = 52	Grupo PE n = 10	Valor p
PAM (mmHg)	90,0 (70,0 – 103,3)	95,0 (86,6 – 103,3)	0,064 **
DFM	5,96 ± 3,59	4,10 ± 4,07	0,204 *
IP artérias uterinas	1,08 (0,70 – 1,91)	1,51 (1,07 – 2,00)	0,016 **

**GRÁFICO 1** - Comparação do índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas no período de 16 a 20 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce.



**GRÁFICO 2** - Comparação da dilatação fluxo-mediada de 16 a 20 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de PE precoce.

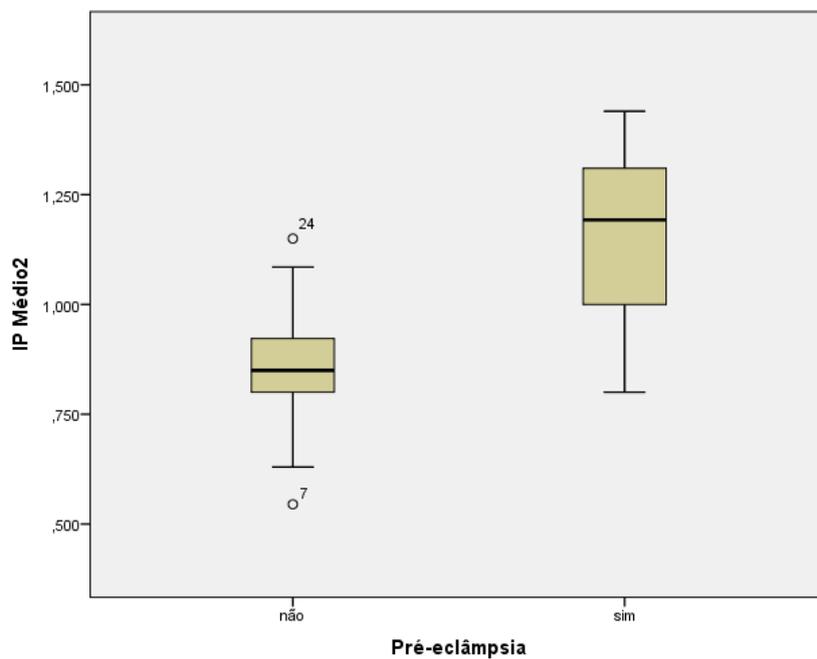


Com 24+0 a 27+6 semanas, o IP-AUt foi novamente superior no grupo que desenvolveu PE. A incisura bilateral protodiastólica também foi detectada com maior frequência nesse grupo. Nessa segunda avaliação, foram observados valores significativamente mais baixos de DFM no grupo PE ( $3,80 \pm 3,23$  x  $9,08 \pm 3,34$ ;  $p=0,001$ ), bem como valores inferiores de IRAO ( $0,67 \pm 0,03$  x  $0,69 \pm 0,03$ ;  $p=0,009$ ). Quanto aos resultados da DFM, no segundo exame os valores observados foram superiores aos da primeira avaliação no grupo de pacientes que permaneceram normotensas, mas o mesmo não ocorreu no grupo que desenvolveu PE. Essas pacientes apresentaram resultados de DFM similares entre os dois períodos. A PAM foi significativamente mais alta no grupo PE à segunda avaliação [ $95,0$  ( $83,3 - 96,7$ ) x  $83,3$  ( $73,3 - 103,3$ );  $p=0,011$ ]. Esses resultados estão demonstrados na Tabela 5 e nos Gráficos 3 a 5.

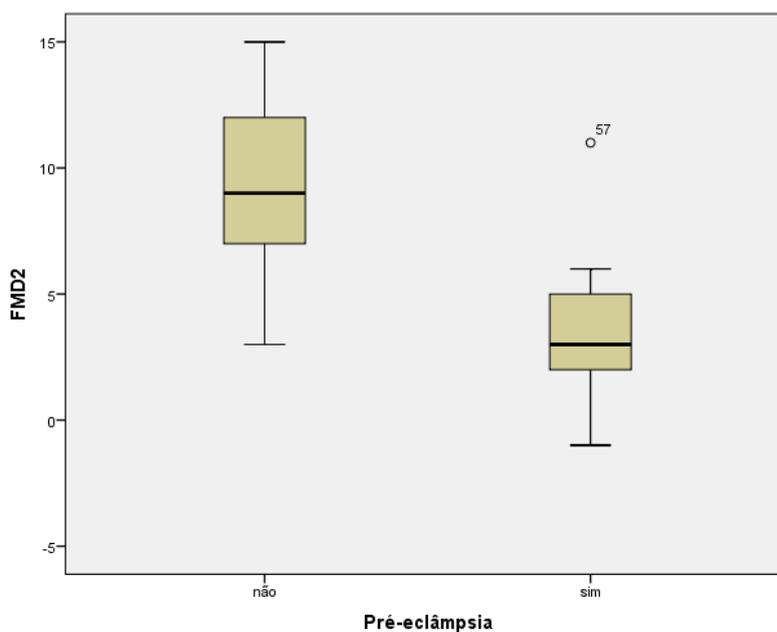
**TABELA 5** – Idade gestacional, PAM e resultados ultrassonográficos de IP médio, DFM e IRAO de pacientes normotensas e pacientes que desenvolveram PE precoce, à avaliação entre 24+0 e 27+6 semanas.

Variável	Grupo normotensas n = 52	Grupo PE n = 10	Valor p
IG (semanas)	26 (24 – 28)	26 (25 – 28)	0,972 **
PAM (mmHg)	83,3 (73,3 – 103,3)	95,0 (83,3 – 96,7)	0,011 **
IP artérias uterinas	$0,85 \pm 0,12$	$1,15 \pm 0,22$	0,002 *
DFM	$9,08 \pm 3,34$	$3,80 \pm 3,23$	0,001 *
IRAO	$0,69 \pm 0,03$	$0,67 \pm 0,03$	0,009 *

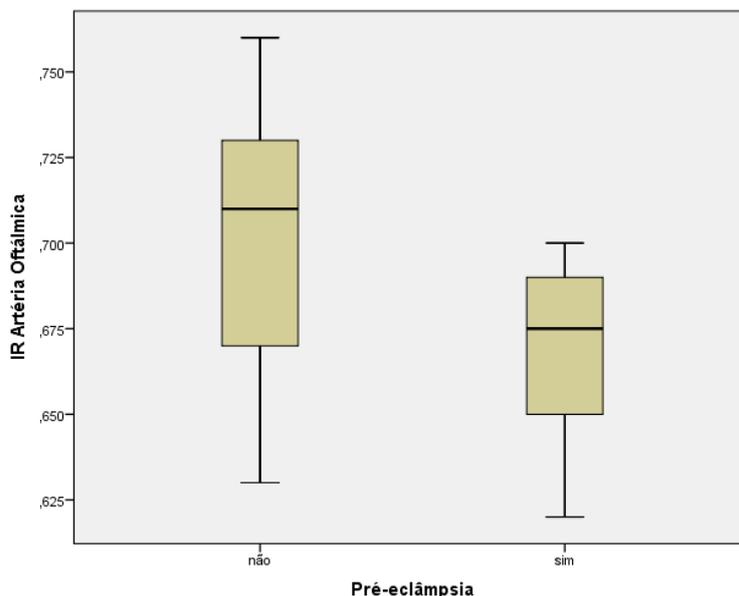
**GRÁFICO 3** - Comparação do índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas de 24 a 28 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce.



**GRÁFICO 4** - Comparação da dilatação fluxo-mediada de 24 a 28 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce.



**GRÁFICO 5** – Comparação do índice de resistência das artérias oftálmicas de 24 a 28 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce.

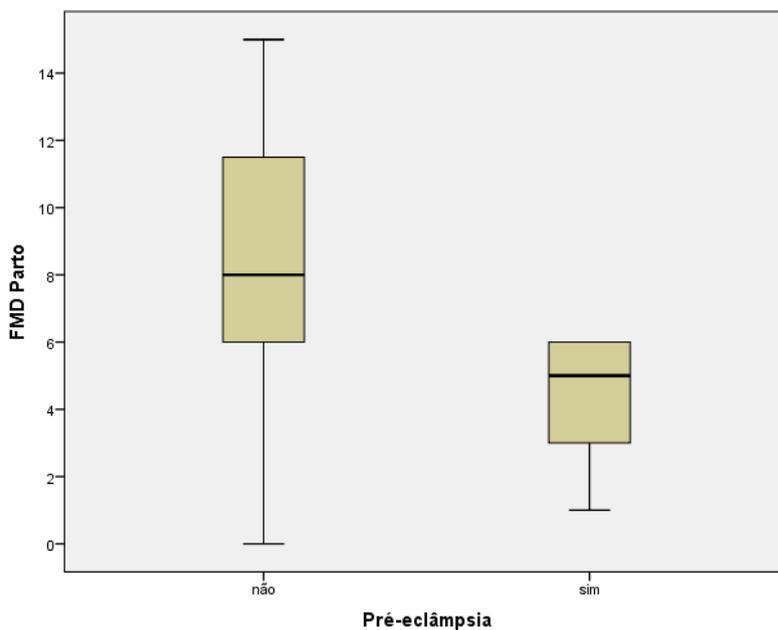


No momento da admissão hospitalar para o parto, tanto os valores de DFM quanto de IRAO permaneceram significativamente inferiores no grupo PE ( $4,30 \pm 1,77$  x  $8,50 \pm 3,12$ ;  $p=0,000$ ) e  $[0,64 (0,60 - 0,70)$  x  $0,72 (0,50 - 0,90)$ ;  $p=0,002$ ], respectivamente. Esses resultados estão expressos na Tabela 6 e nos Gráficos 6 e 7.

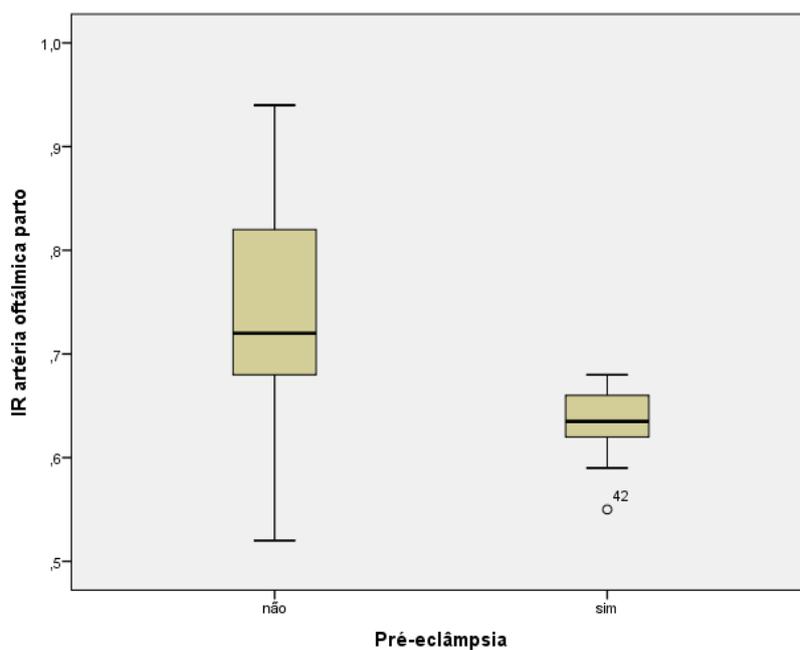
**TABELA 6** – Resultados ultrassonográficos de DFM e IRAO de pacientes do grupo controle e pacientes que desenvolveram PE precoce, à admissão para o parto.

Variável	Grupo normotensas n = 52	Grupo PE n = 10	Valor p
DFM	$8,50 \pm 3,12$	$4,30 \pm 1,77$	0,000 *
IRAO	0,72 (0,50 – 0,90)	0,64 (0,60 – 0,70)	0,002 **

**GRÁFICO 6** - Comparação da dilatação fluxo-mediada à admissão para o parto entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce.



**GRÁFICO 7** – Comparação do índice de resistência das artérias oftálmicas à admissão para o parto entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce.



## 6. DISCUSSÃO

As desordens hipertensivas da gestação permanecem como uma das principais causas de morbidade e mortalidade materno-fetal nos dias atuais. Para prevenir as graves complicações associadas à PE, é essencial que se compreenda integralmente os mecanismos fisiopatológicos envolvidos, de modo a identificar ferramentas que permitam monitorizar o estabelecimento desses processos antes das manifestações clínicas da síndrome.

Diversos grupos em todo o mundo têm se dedicado a pesquisar potenciais métodos de predição da PE, com o objetivo de detectar um risco aumentado da doença ainda em suas fases iniciais. No Centro de Medicina Fetal do HC-UFMG, a aplicação de métodos biofísicos para avaliação de pontos centrais da fisiopatologia da PE - perfusão uterina, disfunção endotelial e hiperfluxo central – apresentou resultados promissores em estudos anteriores. Em estudo longitudinal que acompanhou 118 pacientes de alto risco, Brandão [2012] demonstrou que pacientes que desenvolveram a doença apresentavam alteração do IP de artérias uterinas desde a primeira metade da gestação, bem como redução da DFM no período de 24+0 a 27+6 semanas, indicando o potencial de predição da doença por esses exames. Barbosa *et al* [2010] identificaram hiperperfusão central através de valores significativamente reduzidos de IR de artérias oftálmicas em pacientes com diagnóstico de PE grave, além de demonstrar que este parâmetro pode ser um relevante marcador da ocorrência da temida complicação PRES nessas pacientes.

O estudo longitudinal de Brandão 2012 acima citado forneceu informações valiosas sobre a fisiopatologia da PE, sugerindo uma sucessão cronológica na instalação de seus mecanismos que pode inclusive ser acessada por meio de avaliação ultrassonográfica pré-natal. O presente estudo foi desenvolvido a partir de uma amostra dessas pacientes, que tiveram o seguimento estendido até o momento do parto. Com isso, visou-se ampliar o entendimento da seqüência de eventos fisiopatológicos que desencadeiam a PE – sobretudo nos casos de PE precoce, mais associados a distúrbios no processo de placentação. A realização de exames ultrassonográficos em momentos distintos da gestação teve como objetivo avaliar seu valor potencial como preditores de pré-eclâmpsia precoce nesse grupo de gestantes. Através da análise de parâmetros do Doppler de artérias uterinas, dilatação fluxo-mediada da artéria braquial e Doppler de artérias oftálmicas, foi possível detectar o comportamento da perfusão uterina, disfunção endotelial e hiperfluxo central ao longo da gestação. Com isso, demonstrou-se que pacientes que desenvolveram PE precoce apresentaram evidência de

placentação inadequada desde a primeira metade da gestação, e evoluíram com disfunção endotelial e hiperfluxo para o SNC a partir do segundo trimestre.

Foram acompanhadas gestantes com fatores de risco conhecidos para o desenvolvimento de PE, incluindo condições como DM e HAC, sabidamente associadas à disfunção endotelial prévia à gestação. Isso pode ser considerado uma limitação do estudo, na medida em que pode atuar como fator de confundimento na avaliação dos parâmetros de função endotelial. Além disso, foram incluídas como gestantes de alto risco pacientes primíparas sem outras comorbidades, o que contribui para aumentar a heterogeneidade da amostra - mas possivelmente não compromete sua representatividade em nosso contexto. Outra limitação importante diz respeito à idade gestacional em que foi realizada a primeira avaliação ultrassonográfica, em momento mais tardio que os dados encontrados da literatura científica. A maioria dos estudos publicados analisa o Doppler de artérias uterinas e a DFM desde o primeiro trimestre de gestação, porém na realidade do sistema de saúde público de nosso país, o ingresso de pacientes em serviço terciário de pré-natal de alto risco ocorre em fases já mais avançadas da gestação. Essa é uma questão recorrente em publicações brasileiras, porém a idade gestacional utilizada foi precoce o suficiente para detectar alterações concordantes com a literatura internacional.

A inclusão apenas de pacientes que desenvolveram a forma precoce da PE no presente estudo poderia dificultar a extrapolação dos resultados para todas as gestantes que desenvolvem a síndrome. No entanto, essa opção foi feita com o intuito de aumentar a homogeneidade da amostra e, conseqüentemente, a representatividade dos resultados. Além disso, esse seria o grupo com maior potencial de benefício por um *screening* precoce e eficaz da doença.

A principal contribuição deste trabalho foi indicar que o monitoramento de gestantes de alto risco pode viabilizar a detecção dos mecanismos fisiopatológicos responsáveis pela PE precoce antes que as manifestações clínicas da síndrome possam ser identificadas. A deficiência na perfusão placentária pode ser avaliada pelo Doppler de artérias uterinas na primeira metade da gravidez, e a disfunção endotelial através da DFM na segunda metade. O hiperfluxo central, secundário à disfunção endotelial e ao aumento dos níveis pressóricos, foi evidenciado com sucesso pela diminuição do IRAO nas pacientes afetadas pela doença.

Os resultados obtidos ao Doppler de artérias uterinas mostraram valores de IP-AUt mais elevados no grupo de pacientes que desenvolveu PE desde 16+0 a 19+6 semanas de gestação. Essa alteração ao Doppler se manteve na avaliação entre 24+0 e 27+ 6 semanas. Esses achados são concordantes com a teoria de que a deficiência no processo de invasão trofoblástica e remodelamento das artérias uterinas espiraladas

leva à constituição de uma circulação uteroplacentária de alta resistência nessas pacientes [Roberts & Gammil 2005]. Resultados similares foram demonstrados por Plasencia *et al* [2008] e Yu *et al* [2005], inclusive em idades gestacionais mais precoces, ao fim do primeiro trimestre. Esses resultados trazem uma implicação importante – a deficiência no processo de placentação é uma condição que se estabelece precocemente em gestações complicadas pela PE.

Quanto à função endotelial, é esperado que ocorra uma melhora global durante a gravidez normal. O aumento da capacidade de dilatação dos vasos é uma condição necessária para acomodar o aumento do volume sanguíneo na gestante saudável. Os resultados obtidos neste estudo mostraram que pacientes que não desenvolveram PE apresentaram aumento significativo nos valores de DFM no segundo trimestre, achado similar ao reportado por Savvidou *et al* [2000], que encontrou aumento de 38% nos valores de DFM em gestantes saudáveis. Por outro lado, as gestações complicadas pela PE não apresentaram essa alteração adaptativa. Comprometimento da DFM no segundo trimestre em gestantes que desenvolveram PE também foi demonstrado por Takase *et al* [2003], que encontrou valores significativamente reduzidos de DFM antes do aumento dos níveis pressóricos. É importante ressaltar que os resultados obtidos entre 16+0 e 19+6 semanas foram similares entre os dois grupos de pacientes, mas uma diferença significativa foi observada entre 24+0 e 27+6 semanas. Infere-se, portanto, que a disfunção endotelial, ponto central na fisiopatologia da PE, é um evento progressivo que provavelmente se inicia apenas a partir da segunda metade da gravidez. Isso pode indicar que a disfunção endotelial sistêmica seja um evento secundário à placentação inadequada, que foi demonstrada ainda no primeiro trimestre da gestação. Tal afirmação está em concordância com a teoria fisiopatológica proposta por Huppertz [2008], segundo a qual a hipóxia placentária ocasionaria a liberação de produtos placentários específicos na circulação materna, com ativação de células inflamatórias circulantes e comprometimento da função endotelial de maneira sistêmica.

A predição da PE pela dopplerfluxometria de artérias uterinas e pela DFM traz perspectivas promissoras, sobretudo para os casos de PE precoce. Considerando-se apenas esse grupo de pacientes, Yu *et al* [2005] reportaram índices de detecção da PE de 80% pelo doppler de artérias uterinas realizado na 12ª semana de gestação, para uma taxa de 10% de falso-positivos. Eficácia semelhante foi demonstrada por Plasencia *et al* [2008], com detecção de 82% dos casos ainda no primeiro trimestre. A associação dos dois métodos tem mostrado resultados ainda mais consistentes. Savvidou *et al* [2003] utilizaram com sucesso a incisura protodiastólica bilateral das artérias uterinas associada a valores reduzidos de DFM como marcadores para identificar pacientes que posteriormente desenvolveram PE. Brodzki *et al* [2008] também demonstraram que existe uma correlação entre a presença de incisura bilateral da artéria uterina e os

valores de DFM em gestantes que desenvolveram PE antes de 34 semanas de gestação, sugerindo que o valor preditivo do doppler de artérias uterinas alterado como *screening* para PE poderia ser aumentado pela análise concomitante da DFM.

A redução do índice de resistência das artérias oftálmicas em pacientes com PE grave foi reportada em diversos estudos, demonstrando que a perfusão do SNC está aumentada nessas mulheres. Isso pode ser verificado especialmente em pacientes que apresentam cefaleia e sintomas visuais [Barbosa *et al* 2010]. Apesar de a hiperperfusão parecer contraditória em uma síndrome caracterizada por resistência vascular aumentada e hipoperfusão, o hiperfluxo central na PE é provavelmente resultante do comprometimento da capacidade de auto-regulação do fluxo pelas artérias cerebrais frente a níveis pressóricos elevados. Ele ocorre depois que a injúria endotelial glomerular é estabelecida e os níveis pressóricos aumentam, portanto as manifestações clínicas da PE precedem a queda no IRAO nas pacientes acometidas pela doença. Os resultados encontrados no presente estudo são concordantes com a literatura, com valores de IRAO significativamente menores no grupo que desenvolveu PE, tanto no segundo trimestre quanto no momento do parto. Outro estudo desenvolvido em nosso serviço demonstrou IRAO inferior no momento do diagnóstico de PE, tanto na forma precoce quanto na forma tardia da doença [Brandão *et al* 2012].

A demonstração de hiperperfusão do SNC pelo Doppler de artérias oftálmicas tem utilidade particular em duas situações: para a predição da ocorrência de PRES e para o diagnóstico diferencial entre PE e hipertensão arterial crônica. No primeiro caso, Barbosa *et al* [2010] demonstraram IRAO significativamente reduzido em pacientes com diagnóstico clínico de PRES, em relação inversamente proporcional entre valor de IRAO e probabilidade de PRES. A segunda indicação se justifica pelo fato de que pacientes previamente hipertensas apresentam valores de IRAO similares aos de gestantes saudáveis [Hata *et al* 1997].

Em suma, este estudo demonstrou que hipoperfusão placentária, disfunção endotelial sistêmica e hiperperfusão do SNC precedem cronologicamente as manifestações clínicas da PE em pacientes de alto risco que desenvolvem a forma precoce da síndrome. Esses parâmetros podem ser acessados ao longo da gestação por meio de exames não-invasivos, sendo potencialmente aplicáveis na prática clínica para a predição da doença. A identificação precoce de pacientes de maior risco tem importância relevante na abordagem da PE, em particular no grupo que desenvolve a forma grave da doença. Esses casos, sobretudo se manifestados anteriormente à 34ª semana de gestação, estão associados aos piores desfechos materno-fetais e ao maior potencial de benefício com uma condução clínica rigorosa e individualizada. Intervenções terapêuticas iniciadas mais precocemente trazem a possibilidade de melhores resultados em termos de prevenção.

Pelo exposto, perspectivas futuras no estudo dessa enigmática patologia devem priorizar a capacidade de detecção precoce. Algoritmos englobando múltiplos parâmetros – fatores maternos, marcadores bioquímicos e parâmetros biofísicos – parecem ser a abordagem mais promissora, mas ainda não se chegou a uma definição consistente para embasar recomendações clínicas. Em concordância com a tendência global, estudos piloto estão em andamento com o objetivo de identificar perfis proteômicos e metabolômicos potencialmente associados à doença [von Dadelszen & Magee 2014].

Em nosso contexto, a realização de estudos que incluam múltiplos parâmetros na avaliação longitudinal das pacientes poderia ser de grande valor para a validação dos resultados apresentados e para avaliar a reprodutibilidade de algoritmos já propostos na literatura em nossa população.

## 7. CONCLUSÕES

Após a avaliação dos resultados do presente estudo, é possível concluir que:

- Gestações que não apresentaram complicação hipertensiva se caracterizaram por circulação uteroplacentária de baixa resistência desde o primeiro trimestre, função endotelial otimizada a partir do segundo trimestre e fluxo sanguíneo central fisiológico.
- Gestantes que desenvolveram pré-eclâmpsia precoce apresentaram circulação placentária de alta resistência desde a primeira metade da gestação, evidenciada por IP aumentado ao Doppler de artérias uterinas. Essa alteração precoce sugere que a hipoperfusão placentária seja evento inicial na fisiopatologia da PE.
- O comprometimento da função endotelial, evento central na fisiopatologia da PE, pode ser evidenciado pelo exame de dilatação fluxo-mediada a partir da 24ª semana de gestação em pacientes que desenvolvem a doença. Esse evento ocorre posteriormente à perfusão deficiente da placenta, o que pode representar uma associação causal na cadeia de mecanismos que levam ao estabelecimento da síndrome.
- Hiperfluxo central pode ser detectado em pacientes que desenvolvem PE através do Doppler de artérias oftálmicas (IR) desde a 24ª semana de gestação, o que sugere comprometimento da capacidade de auto-regulação do fluxo pelas artérias cerebrais.
- O acompanhamento de gestações de alto risco com métodos biofísicos permite a detecção de mecanismos fisiopatológicos que precedem cronologicamente as manifestações clínicas da PE, trazendo o potencial de prever a ocorrência da doença.

## REFERÊNCIAS

Abalos E, Cuesta C, Carroli G, Qureshi Z, Widmer M, Vogel JP, Souza JP, on behalf of the WHO Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health Research Network. Preeclampsia, eclampsia and adverse maternal and perinatal outcomes: a secondary analysis of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. *BJOG* 2014; 121(Suppl. 1): 14–24.

ACOG Practice Bulletin: Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstetrics and Gynecology* 2002; 99:159.

Adali E, Kurdoglu M, Adali F, Cim N, Yildizhan R, Kulusari A. The relationship between brachial artery flow-mediated dilatation, high sensitivity C-reactive protein, and uterine artery Doppler velocimetry in women with pre-eclampsia. *J Clin Ultrasound* 2011; 39(4):191–7.

Albaiges G, Missfelder-Lobos H, Lees C, Parra M, Nicolaides KH. One-stage screening for pregnancy complications by color Doppler assessment of the uterine arteries at 23 weeks' gestation. *Obstet Gynecol* 2000; 96: 559–64.

Anderson EA, Mark AL. Flow-mediated and reflex changes in large peripheral artery tone in humans. *Circulation* 1989; 79(1):93-100.

Anderssohn M, Maass LM, Diemert A, Lüneburg N, Atzler D, Hecher K, Böger RH. Severely decreased activity of placental dimethylarginine dimethylaminohydrolase in pre-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012;161:152–156.

Athar HS et al. Angiotensin receptor agonistic autoantibody is highly prevalent in pre-eclampsia correlation with disease severity. *Hypertension* 2010, v. 55, p. 386-393.

Ayaz T, Akansel G, Hayirlioglu A, Arslan A, Suer N, Kuru I. Ophthalmic artery color Doppler ultrasonography in mild-to-moderate preeclampsia. *Eur J Radiol* 2003; 46:244–9.

Barbosa AS, Leite HV, Oliveira AA, Cabral ACV. Ophthalmic artery resistive index in mild and severe preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2006; 25:129.

Barbosa AS, Pereira AK, Reis ZS, Lage EM, Leite HV, Cabral AC, et al. Ophthalmic artery-resistive index and evidence of overperfusion-related encephalopathy in severe preeclampsia. *Hypertension* 2010; 55(1):189-93.

Barton JR, Sibai BM. Prediction and Prevention of Recurrent Preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2008; 112:359–72.

Bots ML et al. Assessment of flow-mediated vasodilatation (FMD) of the brachial artery: effects of technical aspects of the FMD measurement on the FMD response. *Eur Heart J* 2005, v. 26, n. 4, p. 363-8.

Brandão AHF, Lopes APBM, Peres CF, Geber S, Cabral ACV. Aplicação prática da dilatação fluxo-mediada da artéria braquial em Ginecologia e Obstetrícia. *Femina* 2010: vol.88 n 5.

Brandão AHF. Avaliação da função endotelial e da perfusão uterina em gestantes com fatores de risco para pré-eclâmpsia. Tese de doutorado 2012. Pós graduação em Saúde da Mulher, Faculdade de Medicina da UFMG.

Brandão AHF, Barbosa AS, Lopes APBM, Leite HV, Cabral ACV. Dopplerfluxometria de artérias oftálmicas e avaliação da função endotelial nas formas precoce e tardia da pré-eclâmpsia. *Radiol Bras* 2012, v. 45, n. 1, p. 20–23.

Brandão AHF, Evangelista AA, Martins RMF, Leite HV, Cabral ACV. Prediction of early and late preeclampsia by flow-mediated dilation of the brachial artery. *Radiol Bras* 2014; 47(4):206–209.

Brodzki J, Länne T, Laurini R, Strevens H, Wide-Svensson D, Marsál K. Vascular mechanical properties and endothelial function in pre-eclampsia with special reference to bilateral uterine artery notch. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008; 87(2):154-62.

Cabral ACV et al. Aspectos atuais da fisiopatologia da pré-eclâmpsia com repercussões na conduta. *Femina* 2009, v. 37, n. 6, p. 305-08.

Carbillon L, Uzan M, Largilliere C, Perrot N, Tigaizin A, Paries J et al. Prospective evaluation of uterine artery flow velocity waveforms at 12–14 and 22–24 weeks of gestation in relation to pregnancy outcome and birth weight. *Fetal Diagn Ther* 2004; 19: 381–384.

Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340: 1111–15.

Chappell LC, Duckworth S, Seed PT, Griffin M, Myers J, Mackillop L, et al. Diagnostic accuracy of placental growth factor in women with suspected preeclampsia: a prospective multicenter study. *Circulation* 2013; 128(19):2121–31.

Cockell AP, Poston L. Flow-mediated vasodilation is enhanced in normal pregnancy but reduced in preeclampsia. *Hypertension* 1997; 30:247–51.

Cooper DW, Brennecke SP, Wilton AN. Genetics of pre-eclampsia. *Hypertens Pregnancy* 1993; 12:1–23.

Cudihy D, Lee RV. The pathophysiology of pre-eclampsia: Current clinical concepts. *Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2009; 29(7): 576–582.

Dechend R, Viedt C, Muller DN, Ugele B, Brandes RP, Wallukat G, et al. AT1 receptor agonistic antibodies from preeclamptic patients stimulate NADPH oxidase. *Circulation* 2003, 107, 1632–1639.

Dekker GA, De Vries JI, Doelitzsch PM, Huijgens PC, Von Blomberg BM, Jakobs C, et al. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173(4):1042-8.

Diniz ALD, Moronb AF, Santos MC, Sass N, Pires CR, Debsa CL. Ophthalmic artery Doppler as a measure of severe preeclampsia. *International Journal of Gynecology and Obstetrics* 2008: 100, 216–220.

Dorup I, Skajaa K, Sorensen KE. Normal pregnancy is associated with enhanced endothelial-dependent flow-mediated vasodilation. *Am J Physiol* 1999; 276: H 821-5.

Duckitt K; Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ* 2005, p. 330:565.

Esplin MS, Fausett MB, Fraser A, Kerber R, Mineau G et al. Paternal and maternal components of the predisposition to preeclampsia. *N Engl J Med* 2001; 344:867– 872.

Gomez O, Figueras F, Martinez JM, del Rio M, Palacio M, Eixarch E et al. Sequential changes in uterine artery blood flow pattern between the first and second trimesters of gestation in relation to pregnancy outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; 28: 802–808.

Gomez O, Figueiras F, Fernández S, Bennasar M, Martínez JM et al. Reference ranges for uterine artery mean pulsatility index at 11–41 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 32: 128–132.

Green DJ, Jones H, Thijssen D, Cable NT, Atkinson G. Flow-mediated dilation and cardiovascular event prediction: does nitric oxide matter? *Hypertension* 2011; 57(3):363–9.

Guimarães MFB, Brandão AHF, Rezende CAL, Cabral ACV, Brum APM et al. Assessment of endothelial function in pregnant women with preeclampsia and gestational diabetes mellitus by flow-mediated dilation of brachial artery. *Arch Gynecol Obstet* 2014, vol 290, issue 3, pp 441-447.

Harris RA, Nishiyama SK, Wray DW, Richardson RS. Ultrasound assessment of flow-mediated dilation. *Hypertension* 2010; 55(5):1075-85.

Hashimoto M, Akishita M, Eto M, Ishikawa M, Kozaki K, Toba K et al. Modulation of endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery by sex and menstrual cycle. *Circulation* 1995: 3431–3435.

Hata T, Senoh D, Hata K, Kitao M. Ophthalmic artery velocimetry in pregnant women. *Lancet* 1992; 340:182–3.

Hata T, Senoh D, Hata K, Kitao M. Ophthalmic artery velocimetry in preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 1995; 40:32 /5.

Hata T, Hata K, Moritake K. Maternal ophthalmic artery Doppler velocimetry in normotensive pregnancy and pregnancy complicated by hypertensive disorders. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177:174–8.

Holden DP, Fickling SA, Whitley GS, Nussey SS. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine, a natural inhibitor of nitric oxide synthase, in normal pregnancy and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 551–56.

Huppertz B. Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. *Hypertension* 2008; 51(4):970-5.

Huppertz B, Sammar M, Chefetz I, Neumaier-Wagner P, Bartz C, Meiri H. Longitudinal determination of serum PP13 during development of preeclampsia. *Fetal Diagnostic Therapy* 2008, v. 24, n. 3, p.230-6.

Huppertz B, Meiri H, Gizurarson S, Osol G, Sammar M. Placental protein 13 (PP13): a new biological target shifting individualized risk assessment to personalized drug design combating pre-eclampsia. *Human Reproduction Update* 2013, Vol.19, No.4 pp. 391–405.

Hurtado, R ; Geber, S ; Celani, MFS ; Brandao, AHF ; Coimbra, BB. Short term estrogen therapy improves endothelial function in menopausal women: a double blinded randomized controlled trial of flow mediated dilation. *Human Reproduction* 2015 vol.30 suppl 1, pp.116-117.

Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR. Prediction of future cardiovascular outcomes by flow-mediated vasodilatation of brachial artery: a meta-analysis. *Int J Cardiovasc Imaging* 2010; 26(6):631–40.

Lam C, Lim KH, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Hypertension* 2005; 46: 1077–85.

Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004; 350:672– 683.

Levine RJ et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006, v. 355, p. 992-1005.

Magee LA, Helewa M, Moutquin JM, von Dadelszen P; Hypertension Guideline Committee, Strategic Training Initiative in Research in the Reproductive Health Sciences (STIRRHS) Scholars. Diagnosis, evaluation and management of the hypertensive disorders of pregnancy. *J Obstet Gynaecol Can.* 2008; 30(3 Suppl):S1-48.

Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 2003; 111: 649–658.

Moldenhauer JS, Stanek J, Warshak C, Khoury J, Sibai B. The frequency and severity of placental findings in women with preeclampsia are gestational age dependent. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189: 1173–1177.

Myatt L, Cui X. Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol* 2004; 122, 369–382.

Myatt L, Webster RP. Vascular biology of preeclampsia. *J Thromb Haemost* 2009; 7(3):375-84.

Myatt L, Webster RP. Is vascular biology in preeclampsia better? *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2008, 7: 375–384.

Nakatsuka M, Takata M, Tada K, Kudo T. Effect of a nitric oxide donor on the ophthalmic artery flow velocity waveform in preeclamptic women. *J Ultrasound Med* 2002; 21:309–13.

Oliveira CA, de Sá RAM, Velarde LGC, Silva FC, Vale FA, Netto HC. Changes in Ophthalmic Artery Doppler Indices in Hypertensive Disorders During Pregnancy. *Journal Of Ultrasound In Medicine* 2013, Vol.32 (4), pp.609-616.

Onwudiwe N, Yu CK, Poon LC, Spiliopoulos I, Nicolaides KH. Prediction of pre-eclampsia by a combination of maternal history, uterine artery Doppler and mean arterial pressure. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 32(7):877-83.

Plasencia W, Maiz N, Bonino S, Kaihura C, Nicolaides KH. Uterine artery Doppler at 11 + 0 to 13 + 6 weeks in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007; 30: 742–749.

Plasencia W, Maiz N, Poon L, Yu C, Nicolaides KH. Uterine artery Doppler at 11 + 0 to 13 + 6 weeks and 21 + 0 to 24 + 6 weeks in the prediction of preeclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 32(2):138-46.

Poon LCY, Staboulidou I, Maiz N, Plasencia W, Nicolaides KH. Hypertensive disorders in pregnancy: screening by uterine artery Doppler at 11–13 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 34: 142–148.

Poon LCY, Kametas NA, Maiz N, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester prediction of hypertensive disorders in pregnancy. *Hypertension* 2009, vol. 53, no. 5, pp. 812– 818.

Poon LC, Nicolaides KH. Early Prediction of Preeclampsia, Review Article. *Obstetrics and Gynecology International* 2014, vol 11 pg: 297397.

Powe CE, Levine RJ, Karumanchi SA. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease. *Circulation* 2011; 123:2856–2869.

Rana S, Powe CE, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, Levine RJ, Lim KH, Wenger JB, Thadhani R, Karumanchi SA. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation* 2012; 125:911–919.

Rana S, Karumanchi SA, Lindheimer MD. Angiogenic factors in diagnosis, management, and research in preeclampsia. *Hypertension* 2014; 63(2):198–202.

RCOG Press: National Collaborating Centre for Women's and Children's Health. *Antenatal care: routine care for the healthy pregnant woman. Clinical Guideline. Commissioned by the National Institute for Health and Clinical Excellence.* Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, London 2008.

Redman CW, Sargent IL. Immunology of pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol* 2010; 63:534–543.

Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science* 2005; 308:1592–1594.

Reis, ZSN, Lage EM, Teixeira PG, Porto LB, Guedes LR et al. Pré-eclâmpsia precoce e tardia: uma classificação mais adequada para o prognóstico materno e perinatal? *RBGO* 2010, v. 32, p. 584-90.

Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000, v. 83, n. 1, p. 1689-1712.

Roberge S, Villa P, Nicolaides K et al. Early administration of low-dose aspirin for the prevention of preterm and term preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Fetal Diagnosis and Therapy* 2012, vol. 31, no. 3, pp. 141–146.

Roberts JM. Pre-eclampsia and cardiovascular disease later in life: who is at risk? *Br Med J* 2001; 323:1217.

Roberts JM, Lain KY. Recent insights into the pathogenesis of preeclampsia. *Placenta* 2002; 23:359 –372.

Roberts JM, Gammill HS. Preeclampsia: recent insights. *Hypertension* 2005; 46(6):1243-9.

Roberts JM, Catov JM. Preeclampsia more than 1 disease: or is it? *Hypertension* 2008; 51(4):989-90.

Robson, S. C., S. Hunter, R. J. Boys, and W. Dunlop. Serial study of factors influencing changes in cardiac output during human pregnancy. *Am J Physiol* 1989: H1060–H1065.

Rodesch F et al. Oxygen measurements in endometrial and trophoblastic tissues during early pregnancy. *Obstet Gynecol* 1992, v. 80, p. 283-285.

Romero R, Chaiworapongsa T. Preeclampsia: a link between trophoblast dysregulation and an antiangiogenic state. *J Clin Invest* 2013; 123: 2775–2777.

Rumbold A, Duley L, Crowther CA, Haslam RR. Antioxidants for preventing pre-eclampsia. *Cochrane Database Syst Rev* 2008.

Ryan A et al. Ultrasound assessment of flow-mediated dilation. *Hypertension* 2010, vol. 55, p. 1075-1085.

Savvidou MD, Kametas NA, Donald AE, Nicolaides KH. Noninvasive assessment of endothelial function in normal pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000; 15: 502–07.

Savvidou MD, Hingorani AD, Tsikas D, Frölich JC, Vallance P, Nicolaides KH. Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Lancet* 2003; 361: 1511–17.

Savvidou MD, Yu CK, Harland LC, Hingorani AD, Nicolaides KH. Maternal serum concentration of soluble fms-like tyrosine kinase 1 and vascular endothelial growth factor in women with abnormal uterine artery Doppler and in those with fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195:1668 –1673.

Schulz E, Gori T, Münzel T. Oxidative stress and endothelial dysfunction in hypertension. *Hypertens Res* 2011 ;34:665–673.

Schwartz RB, Feske SK, Polak JF, DeGirolami U, Iaia A, Beckner KM et al. Preeclampsia-eclampsia: clinical and neuroradiographic correlates and insights into the pathogenesis of hypertensive encephalopathy. *Radiology* 2000; 217:371–376.

Sibai BM, Mercer B, Sarinoglu C. Severe preeclampsia in the second trimester: recurrence risk and long-term prognosis. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165(5 Pt. 1): 1408–1412.

Sibai BM, Ramadan MK, Usta I, Salama M, Mercer BM, Friedman SA. Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP syndrome). *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:1000–1006.

Sibai BM, Gordon T, Thom E, Caritis SN, Klebanoff M, McNellis D et al. Risk factors for preeclampsia in healthy nulliparous women: a prospective multicenter study. *AJOG* 1995; 172:642–648.

Sibai BM, Caritis S, Hauth J, Lindheimer M, VanDorsten JP, MacPherson C, et al. Risks of preeclampsia and adverse neonatal outcomes among women with pre-gestational diabetes mellitus. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182:364–9.

Sibai BM. Chronic hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2002; 100:369–77.

Sibai BM. Diagnosis, controversies, and management of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. *Obstet Gynecol* 2004; 103(5 pt 1): 981–991.

Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005; 365:785–99.

Sierra-Laguado J, Garcia RG, López-Jaramillo P. Flow-mediated dilatation of the brachial artery in pregnancy. *Int J Gynecol Obstet* 2006; 93(1):60-1.

Silva FC, Sá RAM, Velarde LGC, Suarez B, Ville Y. Doppler sonography of maternal cerebral arteries in pregnancy: side-to-side differences. *Gynecol Obstet Invest* 2011; 72:25–31.

Smith GN, Walker MC, Liu A et al. A history of preeclampsia identifies women who have underlying cardiovascular risk factors. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200:58.e1-58.e8.

South Australian Perinatal Practice Guidelines: Hypertensive disorders in pregnancy. Last reviewed: August 2010.

Staff AC, Benton SJ, von Dadelszen P, Roberts JM, Taylor RN et al. Redefining Preeclampsia Using Placenta-Derived Biomarkers. *Hypertension* 2013, vol 61(5), p 932–942.

Stegers EA, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Preeclampsia. *Lancet* 2010, 21; 376(9741):631–44.

Takase B, Goto T, Hamabe A, et al. Flow-mediated dilation in brachial artery in the second half of pregnancy and prediction of pre-eclampsia. *J Hum Hypertens* 2003; 17:697–704.

Takata M, Nakatsuka M, Kudo T. Differential blood flow in uterine, ophthalmic, and brachial arteries of preeclamptic women. *Obstet Gynecol* 2002; 100:931–8.

Thway TM, Shlykov SG, Day MC, Sanborn BM, Gilstrap LC, Xia Y, et al. Antibodies from preeclamptic patients stimulate increased intracellular Ca<sup>2+</sup> mobilization through angiotensin receptor activation. *Circulation* 2004, 110, 1612–1619.

Vatten LJ, Eskild A, Nilsen TI, Jeansson S, Jenum PA, Staff AC. Changes in circulating level of angiogenic factors from the first to second trimester as predictors of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196:239.e1–239.e6.

Velauthar L, Plana MN, Kalidindi M et al. First-trimester uterine artery Doppler and adverse pregnancy outcome: a meta analysis involving 55 974 women. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 2014, vol. 43, no. 5, pp. 500–507.

Von Dadelszen P, Phil D, Magee LA, Roberts JM. Subclassification of Preeclampsia. *Hypertension in Pregnancy* 2003; vol 22 n.2: 143-148.

Von Dadelszen P, Payne B, Li J, Ansermino JM, Broughton PF, et al; PIERS Study Group. Prediction of adverse maternal outcomes in preeclampsia: development and validation of the full PIERS model. *Lancet* 2011; 377:219–27.

Von Dadelszen P, Magee LA. Pre-eclampsia: An Update. *Curr Hypertens Rep* 2014; vol 16: 454.

Wallukat G, Homuth V, Fisher T, Lindschau C, Horstkamp B, Jupner A et al. Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin AT1 receptor. *J Clin Invest* 1999; 103:945–952.

Weissgerber TL. Flow-Mediated Dilation: Can New Approaches Provide Greater Mechanistic Insight into Vascular Dysfunction in Preeclampsia and Other Diseases? *Curr Hypertens Rep* 2014; 16:487.

Williams DJ, Vallance PJT, Neild GH, Spencer JAD, Imms FJ. Nitric oxide mediated vasodilation in human pregnancy. *Am J Physiol* 1997; 272: H748–H752, 1997.

World Health Organization (WHO). *The World Health Report 2005: Make Every Mother and Child Count*. Geneva, 2005.

World Health Organization (WHO). Recommendations for prevention and treatment of pre-eclampsia and eclampsia. Geneva, 2011.

Yang X, Guo L, Li H, Chen X, Tong X. Analysis of the original causes of placental oxidative stress in normal pregnancy and preeclampsia: a hypothesis. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012; 25, 884–888.

Yang X, Wang F, Lau WB, Zhang S, Zhang S, Liu H, Ma XL. Auto antibodies Isolated from Preeclamptic Patients Induce Endothelial Dysfunction via Interaction with the Angiotensin II AT1 Receptor. *Cardiovasc Toxicol* 2014; 14:21–29.

Young BC, Levine RJ, Karumanchi SA. Pathogenesis of preeclampsia. *Annual Rev Pathol* 2010; 5:173-92.

Yu CK, Smith GCS, Papageorghiou AT, Cacho AM, Nicolaides KH. An integrated model for the prediction of preeclampsia using maternal factors and uterine artery Doppler velocimetry in unselected low-risk women. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193: 429–436.

Zeeman GG. Neurologic complications of preeclampsia. *Semin Perinatol* 2009; 33:166–172.

Zhang J, Klebanoff MA, Roberts JM. Prediction of adverse outcomes by common definitions of hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2001; 97(2):261-7.

Zheng Bian, Chenzi Shixia, Tao Duan. First-Trimester Maternal Serum Levels of sFLT1, PGF and ADMA Predict Preeclampsia. *PLOS ONE/DOI:10.1371/journal.pone.0124684* April 2015.

Zhou Y, Fisher SJ, Janatpour M, Genbacev O, Dejana E, Wheelock M, Damsky CH. Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? *J Clin Invest* 1997: 2139–2151.

**ANEXO A – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais**



**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 Obstetria  
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 sFit-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**

**ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido*****Avaliação da função endotelial e dos marcadores de angiogênese (PIGF e sFlt-1) como métodos de predição da pré-eclâmpsia na primeira metade da gestação***

*A pré-eclâmpsia é uma doença grave na gestação, em que a pressão arterial se eleva, colocando em risco a mãe e o filho. Até o momento não se conhece exatamente como evitar seu aparecimento. Diversos estudos vêm sendo feitos na tentativa de entender por que ela acontece em algumas gestantes e em determinados casos de forma grave. A doença é marcada por alteração nos vasos sanguíneos do organismo, que pode ser avaliada por medida da dilatação dos vasos por meio do aparelho de ultrassom e por substâncias encontradas no sangue periférico. Um exame chamado dilatação fluxo-mediada (DFM) é capaz de avaliar a função e a 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 dos vasos pelo aparelho de ultrassom. Esse exame não é invasivo, mas você poderá sentir um leve formigamento no braço, que desaparecerá em poucos segundos, sem causar qualquer dano. Algumas substâncias encontradas no sangue periférico, chamadas de marcadores de angiogênese (PIGF e sFlt-1), também podem refletir as alterações nos vasos sanguíneos das gestantes com pré-eclâmpsia. Para isso, é preciso coletar uma amostra de sangue (10 mL) para análise em laboratório. A punção da veia do seu braço para retirada de 10 mL de sangue pode provocar dor de leve intensidade e às vezes levar à formação de um pequeno hematoma (coloração arroxeadada) no local e muito raramente vermelhidão. Esses dois exames não fazem parte da rotina do Hospital das Clínicas e você deve estar ciente de que os objetivos estão ligados somente à pesquisa. O Centro de Medicina Fetal da UFMG (CEMEFE) é um importante centro de estudos, onde são desenvolvidas pesquisas que têm como objetivo aprimorar os métodos de diagnóstico da pré-eclâmpsia.*

*Nesse momento, estamos convidando você a participar deste estudo, sendo que sua aceitação ou recusa não implicará qualquer vantagem ou benefício para você ou seu filho. Seu acompanhamento no Hospital das Clínicas permanecerá inalterado e seu nome ou da sua criança não serão divulgados de forma alguma. Todos os dados dos seus exames só serão divulgados na forma de publicações científicas ou congressos médicos, sempre mantendo em sigilo seu nome. Só os pesquisadores do CEMEFE terão acesso aos seus dados. Caso seja de seu interesse, os resultados estarão guardados com o pesquisador e lhe serão entregues assim que você solicitar.*

1- Eu, ....., portadora de documento de identidade..... expedido pela....., estou ciente do que foi exposto acima e autorizo a realização do exame do FMD (DILA), bem como a 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, 6.627 Unidade Administrativa II, 20 andar - Campus Pampulha. Belo Horizonte MG – CEP: 31270-901.