

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

HOSPITAL DAS CLINICAS DA UFMG

**AVALIAÇÃO DE MARCADORES
CLÍNICOS E URINÁRIOS DA
PREECLAMPSIA EM GESTAÇÕES DE
RISCO. UMA ANÁLISE LONGITUDINAL.**

Defesa de tese de doutorado
apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Saúde da Mulher.
Área de concentração:
Perinatologia.

ALUNA: Jacqueline Braga Pereira

ORIENTADORA: Profa. Dra: Zilma Silveira Nogueira Reis

Belo Horizonte

2014

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
HOSPITAL DAS CLINICAS DA UFMG**

**AVALIAÇÃO DE MARCADORES
CLÍNICOS E URINÁRIOS DA
PREECLAMPSIA EM GESTAÇÕES DE
RISCO. UMA ANÁLISE LONGITUDINAL.**

ALUNA: Jacqueline Braga Pereira

ORIENTADORA: Profa. Dra: Zilma Silveira Nogueira Reis

Belo Horizonte

2014

P436a Pereira, Jacqueline Braga.
Avaliação de marcadores clínicos e urinários da preeclampsia em gestações de risco [manuscrito]: uma análise longitudinal. / Jacqueline Braga Pereira. - - Belo Horizonte: 2014.
121f.: il.
Orientador: Zilma Silveira Nogueira Reis.
Área de concentração: Saúde da Mulher.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Pré-Eclampsia. 2. Marcadores Biológicos. 3. Creatinina. 4. Fatores de Risco. 5. Valor Preditivo dos Testes. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Reis, Zilma Silveira Nogueira. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título.

NLM: WQ 215



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

UFMG

FOLHA DE APROVAÇÃO

Avaliação de marcadores clínicos e urinários da preeclampsia me gestações de risco. Uma análise longitudinal.

JACQUELINE BRAGA PEREIRA

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

Aprovada em 21 de novembro de 2014, pela banca constituída pelos membros:

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

Prof(a). Patricia Gonçalves Teixeira
UFMG

Prof(a). Silvia Passos Andrade
UFMG

Prof. Rodrigo Bastos Foscolo
UFMG

Prof. Antonio Carlos Vieira Cabral
UFMG

Belo Horizonte, 21 de novembro de 2014.

“Às vezes, achamos que não temos esperança...

Mas continuamos assim mesmo

E então... descobrimos que temos.”

Pronto ou não, diga a a você mesmo: “pule”! (Chris Gardner)

DEDICATÓRIA

Antigamente, as pessoas se guiavam pelas estrelas em suas longas jornadas...

Posso dizer que, nesta jornada, voltei às origens e tive a constelação de Três Marias a me orientar: três GRANDES estrelas....Uma que me gerou, Uma outra a quem eu gerei e a Outra que me ensinou a gerar.

A primeira , estrela protetora, a quem pude recorrer nos momentos de angústia, cansaço, solidão e desespero . Meu apoio.

A segunda, meu amor incondicional, doce e amiga, quem me recebia com abraços e me contava estórias todos os dias antes de dormir.

A terceira, minha bússola, minha guia, quem me mostrou que existe a hora de viver as perguntas e as respostas, um começo e um fim.

A primeira, minha mãe Carmelita

A segunda, minha filha Alexia

A terceira, minha orientadora Zilma

Às três, que me suportaram em amor, paciência, compreensão, carinho e rigor na busca de determinação diária, durante este percurso, é para quem dedico esta tese, digo esta obra.

AGRADECIMENTOS

À Deus, minha fortaleza, meu porto seguro, minha luz em todos os momentos.

Aos meus Pais, Alípio e Carmelita, pelo apoio e amor, incondicionais, por todos os momentos em que me ofereceram tudo quanto podiam para tentar deixar minha jornada tranquila, desde o chá na madrugada até o suporte constante.

Ao meu irmão Junio, exemplo de simplicidade e desapego, que em sua luta diária sempre me mostrou que, apesar das dificuldades, é possível ir além.

À minha filha Alexia, por compreender minha ausência e, mesmo em meio à tanta correria do dia a dia, sempre a me oferecer um lindo sorriso desde o despertar ao adormecer.

Ao Professor Henrique Vítor Leite, pelo exemplo, pelos conselhos, pela compreensão da necessidade de organização da jornada de trabalho, indispensáveis para a realização desta obra e, por sempre se mostrar preocupado com o meu futuro, como se fosse meu pai na profissão.

Aos Professores Zilma Silveira Nogueira Reis e Antônio Carlos Vieira Cabral, pela oportunidade de ingressar neste Programa de Pós-graduação de Saúde da Mulher, por seus exemplos de profissionais na obstetrícia, o que em muito contribuiu na definição da minha escolha da especialidade e o local onde realizar meu doutoramento.

À minha amiga Daniela Fóscolo, pela amizade, pelos ombros e ouvidos, tornando o percurso mais alegre e, também por me servir de exemplo de força e determinação, incentivado-me a concluir este trabalho, juntas!

Aos Professores Antônio Carlos Vieira Cabral, Maria Aparecida Vieira, Patrícia Gomes Teixeira por participarem da minha banca na etapa de qualificação desta tese, e que com seus conhecimentos e valiosas opiniões, em muito contribuíram para o delineamento das idéias deste estudo.

À prof (a). Dra. Silvia Passos Andrade, por fornecer as fórmulas para preparo das soluções e pelo aceite em participar da avaliação deste estudo.

Ao prof. Dr. Rodrigo Bastos Fóscolo, por sua amizade e pronta aceitação em participar desta banca de avaliação, contribuindo para uma outra visão do estudo.

Aos alunos da iniciação científica que participaram da etapa de recrutamento das pacientes, das coletas de urina e da digitação do banco de dados.

Ao querido Iure Kalinine e aos amigos Juliana e Alexandre Barra pela ajuda e incentivo constantes à necessidade e importância da conclusão deste trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Maternidade HC-UFMG e do ambulatório Jenny Faria, pelo apoio na realização deste estudo.

A todos os familiares, amigos e colegas que acreditaram e me apoiaram, e à Nina que muitas vezes, mesmo sem entender, respeitou minha motivação.

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

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. REVISÃO DA LITERATURA	26
2.1 A PREECLÂMPسيا E SEUS PREDITORES CLÍNICOS.....	26
2.2 OS FATORES DE ANGIOGÊNSE NA PREECLÂMPسيا.....	32
2.3 MARCADORES URINÁRIOS DA PREECLÂMPسيا.....	35
2.3.1 PROTEINÚRIA	35
2.3.2 CREATININA URINÁRIA	38
2.3.3 FATORES DE ANGIOGÊNESE NA URINA.....	39
3. OBJETIVOS	41
4. PACIENTES E MÉTODOS	42
4.1 PACIENTES	42
4.1.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO - RECRUTAMENTO.....	42
4.1.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	43
4.1.3 SEGUIMENTO DAS GESTANTES	44
4.1.4 CRITÉRIOS DE DIAGNÓSTICO E CLASSIFICAÇÃO DA PREECLÂMPسيا.....	46
4.1.5 QUESTÕES ÉTICAS E FINANCIAMENTO DA PESQUISA.....	47
4.2 MÉTODOS	48

4.2.1 COLETA DE URINA MATERNA.....	47
4.2.2 TÉCNICA DE DOSAGEM DA MICROALBUMINÚRIA.....	48
4.2.3 TÉCNICA DE DOSAGEM DOS FATORES DE ANGIOGÊNESE PIGF E SFLT-1 – ELISA.....	49
4.2.4 TÉCNICA DE DOSAGEM DE CREATININA URINÁRIA.....	53
4.3 MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	55
5. RESULTADOS	58
5.1 MARCADORES CLÍNICOS E BIOQUÍMICOS DAS SÍNDROMES HIPERTENSIVAS.....	61
5.2 MARCADORES CLÍNICOS E BIOQUÍMICOS DA PREECLÂMPسيا.....	65
5.2.1 MARCADORES CLÍNICOS DA PREECLÂMPسيا.....	65
5.2.2 MARCADORES BIOQUÍMICOS DA PREECLÂMPسيا.....	71
5.2.2.1 Avaliação comparativa da concentração urinária de creatinina e dos fatores de angiogênese antes e após 20 semanas de gestação.....	71
5.2.2.2 Avaliação do potencial preditivo das dosagens urinárias dos fatores de angiogênese e da creatinina, por momento da gestação.....	73
5.2.3 ANÁLISE MULTIVARIADA DE MARCADORES CLÍNICOS E BIOQUÍMICOS DA PREECLÂMPسيا.....	84
6. DISCUSSÃO.....	85

6.1 A IMPORTÂNCIA DO ESTUDO NO CONTEXTO DO CUIDADO MATERNO-INFANTIL.....	85
6.2 AS CARACTERÍSTICAS DA COORTE E A IMPORTÂNCIA DA METODOLOGIA EMPREGADA.....	86
6.3 A ANÁLISE DOS MARCADORES CLÍNICOS E BIOQUÍMICOS DA PREECLÂMPsia.....	91
6.4 LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS	102
7. CONCLUSÕES.....	105
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	106
ANEXOS.....	117
ANEXO 1- Aprovação do Comitê de Ética.....	117
ANEXO 2- Ficha da Paciente.....	118
ANEXO 3- Ata da defesa.....	121

ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Diagrama de seguimento da coorte de gestantes e agrupamentos segundo desfechos no momento do parto.....45

Figura 2: Acurácia da concentração urinária de sFlit-1 na predição de preeclâmpsia, em gestantes de risco.....75

Figura 3: Acurácia da concentração urinária de PIGF na predição de gestantes normotensas no parto, em gestantes de risco.....78

Figura 4: Acurácia da concentração urinária de creatinina na predição de preeclâmpsia entre gestantes de risco.....81

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Concentrações urinárias de sFlit-1 no primeiro trimestre gestacional, comparando-se o grupo que desenvolveu preeclâmpsia com o que permaneceu normotenso no parto.....74

Gráfico 2: Concentrações urinárias de sFlit-1 no segundo trimestre gestacional, comparando-se o grupo que desenvolveu preeclâmpsia com o que permaneceu normotenso no parto.....74

Gráfico 3: Concentrações urinárias de PIGF no primeiro trimestre gestacional, comparando-se o grupo que desenvolveu preeclâmpsia com o que permaneceu normotenso no parto.....77

Gráfico 4: Concentrações urinárias de PIGF no primeiro trimestre gestacional, comparando-se o grupo que desenvolveu preeclâmpsia com o que permaneceu normotenso no parto.....77

Gráfico 5: Concentrações urinárias de creatinina urinária no primeiro trimestre gestacional, comparando-se o grupo que desenvolveu preeclâmpsia com o que permaneceu normotenso no parto.....80

Gráfico 6: Concentrações urinárias de creatinina urinária no segundo trimestre gestacional, comparando-se o grupo que desenvolveu preeclâmpsia com o que permaneceu normotenso no parto.....80

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1: Critérios de diferenciação dos estados hipertensivos na gravidez e diagnóstico da preeclâmpsia.....	46
Quadro 2: Escala visual de proteinúria semiquantitativa.....	49
Tabela 1: Incidência de doenças hipertensivas nas gestantes	58
Tabela 2: Características clínicas e epidemiológicas das gestantes da coorte, no momento do recrutamento.....	59
Tabela 3: Características clínicas e epidemiológicas das gestantes da coorte, no momento do parto.....	60
Tabela 4: Fatores de risco clínico para desenvolvimento das síndromes hipertensivas na gravidez.....	62
Tabela 5: Marcadores bioquímicos urinários para desenvolvimento das síndromes hipertensivas na gravidez.....	64
Tabela 6: Tipo de parto das pacientes das gestantes seguidas na coorte.....	66
Tabela 7: Características clínicas e obstétricas dos grupos de estudo: normotensas e com preeclâmpsia, ao final da gestação (n = 127).....	69
Tabela 8: Marcadores clínicos para desenvolvimento da preeclâmpsia.....	70

Tabela 9: Comportamento dos fatores de angiogênese e da creatinina urinários, na primeira e segunda metade da gestação, na coorte seguida no estudo.....72

Tabela 10: Avaliação do ponto de corte dos marcadores bioquímicos urinários e a predição destes no desenvolvimento das preeclâmpsia/eclâmpsia na gravidez.....83

Tabela 11: Análise multivariada com fatores de risco clínico e bioquímicos para desenvolvimento da preeclâmpsia (n = 83).....84

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ACOG	Colégio Americano de Ginecologia e Obstetrícia
AT1	Angiotensina 1
Cols	Colaboradores
DILA	Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial
DP	Desvio padrão
ELISA	Ensaioimunoenzimático - Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FIGO	Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia
G	Gramas
H	Horas
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HAC	Hipertensão arterial crônica
IC	Intervalo de confiança
IECAs	Inibidores das angiotensinas
IG	Idade gestacional
IMC	Índice de massa corporal
Kg	Kilograma
Kg/m ²	Kilograma por metro quadrado
mg	Miligrama
Mcg	Micrograma(s)
mg/dl	Miligrama por decilitro
ml	Mililitro
MmHg	Milímetros de mercúrio
Nm	Nanômetro
NHBPEPWG	National High Blood Pressure Education Program Working Group
NO	Óxido nítrico
OMS	Organização Mundial de Saúde
OR	Odds ratio
PA	Pressão arterial
R	Índice de correlação de Pearson
RFG	Ritmo de filtração glomerular
ROC	Receiver-Operator Characteristic Curve
Sem	Semanas
s Eng	Endoglin
sFlit-1	Fator solúvel fms like tyrosine kinase -1
SRAA	Sistema renina angiotensina aldosterona
SSPS	Statistical Package for the Social Sciences
PE	Preeclâmpsia
PIGF	Fator de crescimento placentário
TGO	Transaminase glutâmico oxalacética (AST)
TGP	Transaminase glutâmico pirúvica (ALT)
μ	Micra
B	Beta

RESUMO

A preeclâmpsia (PE) é a principal causa de morbimortalidade materno-fetal, acometendo 5 a 7% das gestantes no mundo. A busca pelo diagnóstico precoce através de métodos pouco invasivos e com boa acurácia busca evitar as complicações maternas e fetais. Objetivo: avaliar a capacidade de predição de marcadores clínicos e bioquímicos no diagnóstico da PE. Pacientes e métodos: estudo longitudinal composto por uma coorte de 139 pacientes recrutadas precocemente e acompanhadas até o parto. Dados clínicos e amostras de urina foram coletadas para a dosagem de microalbuminúria, creatinina, PIGF e sFlit-1, durante a gestação. A associação com a doença hipertensiva foi estimada através da razão de chances univariada e multivariada, assim como a acurácia dos fatores de risco clínicos e epidemiológicos e dos bioquímicos dosados na predição da PE foi avaliada. Resultados: trinta e oito (27,3%) gestantes apresentaram alguma síndrome hipertensiva no parto, destas 26 (68,4%) desenvolveram PE. Ao recrutamento, pacientes que iriam desenvolver PE no parto, tinham idade gestacional $12,1 \pm 3,4$ semanas e níveis pressóricos sistólico ($118 \pm 12,8$ mmHg) e diastólico ($78 \pm 8,7$ mmHg), mais elevados do que no grupo controle (níveis pressóricos sistólico ($109 \pm 9,8$ mmHg) e diastólico ($68 \pm 7,6$ mmHg) ($p < 0,001$). Os fatores de risco isoladamente associados ao surgimento da síndrome hipertensiva foram: a história pregressa de PE (OR 13,2; IC95%: 2,7-65,5), a idade >35 anos (OR 3,6; IC95%: 1,1-11,4) e o $IMC \geq 30$ kg/m² no recrutamento (OR: 3,30; IC95% 1,2-8,8). Para PE, o preditores bioquímicos e clínicos corrigidos por cofatores, foram: história pregressa de PE (OR 14,4; IC95%: 0,8-279,0), o $IMC \geq 30$ kg/m² no recrutamento (OR: 4,80; IC95%

0,9-25,5), ser primigesta (OR 5,60; IC95%: 1,30-24,6), e elevação da concentração de creatinina urinária (mg/dL), dosada no recrutamento (OR 1,01; IC95%: 1,01-1,03). Conclusão: Os marcadores bioquímicos urinários estudados (proteinúria, creatinina, PLGF e sFlit-1) apresentaram comportamentos distintos em relação à capacidade preditiva de PE, sendo que apenas a dosagem urinária de creatinina mostrou-se promissora para uso em associação aos preditores clínicos, em gestantes de risco.

PALAVRAS CHAVES: preeclâmpsia, marcadores urinários, creatinina, PIGF, sFlit-1.

ABSTRACT

Preeclâmpsia (PE) is the leading cause of maternal and fetal morbidity and mortality , affecting 5-7 % of pregnant women in the world . The search for early diagnosis using minimally invasive methods with good accuracy seeks to prevent maternal and fetal complications. Objective: To evaluate the predictive avoid of clinical and biochemical markers for early diagnosis of PE. Patients and methods: a cohort longitudinal study of 139 patients recruited early and followed until delivery. Clinical data and urine samples were collected for measurement of proteinúria, creatinine, PIGF and sFlit-1, levels during pregnancy. The association with hypertension was estimated by the ratio of univariate and multivariate odds , as well as accuracy of clinical and epidemiological risk and measured biochemical factors in predicting PE. Results: thirty-eight (27.3 %) pregnant women had some hypertensive syndrome at birth , these 26 (68.4 %) developed PE. Recruitment, patients who would develop PE in childbirth , had a gestational age 12.1 ± 3.4 weeks and systolic blood pressure ($150 \pm 15,4$ mmHg) and diastolic ($99 \pm 10,6$ mmHg) , higher than in the control group (systolic blood pressure ($109 \pm 9,8$ mmHg) and diastolic ($68 \pm 7,6$ mmHg) ($p < 0.001$). Risk factors associated isolated with hypertensive syndrome were: a history of PE (OR 13.2 , 95% CI : 2.7-65.5) , age > 35 years (OR 3.6 , 95% CI : 1,1-11.4) and the $IMC \geq 30$ Kg / m² in recruitment (OR : 3.30 , 95% CI 1.2-8.8) . For PE , the clinical and biochemical predictors corrected by cofactors were: previous history of PE (OR 14.4 , 95% CI : 0.8-279.0) , the $IMC \geq 30$ Kg / m² in recruitment (OR : 4.80 95% CI 0.9 to 25.5) , be primigravida (OR 5.60 , 95% CI : 1.30-24.6) , and elevated concentration of urinary creatinine (mg/dL) , measured at recruitment

(OR 1.01 , 95% CI : 1.01-1.03). Conclusion: Urinary biochemical markers studied (proteinúria, creatinine, PLGF and Sflit-1) showed different behavior in relation to the predictive ability of PE, and only, urinary creatinine showed biochemical clinical value for use in combination with clinical predictors in pregnant women at risk .

KEY WORDS: Preeclâmpsia, biochemical predictors, creatinine, PIGF, sFlit-1.

1. INTRODUÇÃO

A preeclâmpsia é uma condição que se caracteriza clinicamente pelo aumento da pressão arterial e proteinúria, após a segunda metade da gestação. Os mecanismos das disfunções urinárias associadas a essa doença no ciclo gravídico-puerperal e a persistência da doença renal e de outras sequelas após resolução da gestação ainda não foram adequadamente estimados, nem completamente elucidados. Há evidências de que a alteração no ritmo de filtração glomerular e a proteinúria que acontecem na preeclâmpsia sejam reversíveis, mas o que se tem observado é que, em alguns casos, a permanência ou reaparecimento de alterações durante anos aumenta o risco do desenvolvimento de hipertensão arterial crônica, doenças coronarianas e infarto (CHAMBERS, 2003).

É sabido que a preeclâmpsia é um grave problema de saúde que acomete parcela significativa das gestações e que está relacionada, especialmente na sua forma precoce, à alta taxa de morbidade e mortalidade não somente materno quanto fetal, aumentando a chance de ocorrência de prematuridade, da restrição do crescimento fetal e até do óbito do concepto (SIBAI, 2008).

Na sua forma tardia, a preeclâmpsia também apresenta envolvimento placentário notório, apesar da evolução materna ser mais favorável (SIBAI, 2008). Sua alta incidência tem está relacionada à vigência de condições que favorecem o seu aparecimento na gestação como a própria placentação e a liberação e desbalanço de fatores de angiogênese (PLGF, VEGF, sFlit-1 e sEng) (MYERS *et al.*; 2013). Grandes preocupações têm surgido, direcionando a

busca pelo tratamento ou, pelo menos, por algum meio de melhor entender seu mecanismo fisiopatológico. Esforços têm sido empreendidos no sentido de se tentar abordagens que ampliem as possibilidades que possam ir além da tradicional interrupção precoce da gestação. É preciso ainda não somente tratar ou controlar, mas sim interromper ou até mesmo evitar seu surgimento.

Muitos são ainda os desafios para os pesquisadores dos distúrbios hipertensivos da gravidez. Várias são as teorias que tentam estabelecer os fatores causais da preeclâmpsia, como em destaque para a do desbalanço das angiotensinas, componentes do eixo Sistema Renina Aldosterona Angiotensina (SRAA) (ACOG, 2013). Além deste, os mecanismos da inadaptação imune, a do excesso de debris celulares, do estresse oxidativo, da alteração de fatores genéticos (JACQUELYN, 2011). Outra teoria é a que aponta para a presença de substâncias pró e anti-angiogênicas na circulação materna (MAYNARD, 2003). Atualmente, sob este aspecto, a preeclâmpsia tem sido abordada como um desbalanço entre fatores placentários pró-angiogênicos: fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento placentário (PIGF) e as proteínas anti-angiogênicas (sFlit-1, sEng). (KAUFMANN I, 2012; CHAIWORAPONGSA T, 2013). Dentre os vários fatores de angiogênese já conhecidos, têm-se apresentado como principais na patogênese da preeclâmpsia, além dos dois supracitados, a forma livre do receptor VEGF R-1 (fator solúvel fms-like tyrosine kinase-1 ou sFlit-1) (CLARK, 1998).

A predição da preeclâmpsia através de marcadores clínicos, laboratoriais e por imagem tem sido almejada por seu potencial no direcionamento assistencial durante o cuidado pré-natal. Sabemos que antes de um biomarcador de doença ser instituído na prática clínica, ele precisa ser validado, ter baixo custo efetivo, ter alta sensibilidade, deve ter utilidade na avaliação clínica da paciente (MEADS, 2008) e ser instituído para o rastreamento desta doença o mais precocemente. Valoriza-se então que seja de fácil acesso, como por exemplo, neste estudo, detectável ainda durante os cuidados do pré-natal.

É consenso que o diagnóstico da preeclâmpsia e a diferenciação das suas formas clínicas, ainda se baseiam nos níveis pressóricos, nos sintomas clínicos e na medida da proteinúria de 24h. No entanto, o estudo de diversos preditores bioquímicos e ultrassonográficos, métodos rápidos e pouco invasivos, como a expressão e função de fatores angiogênicos e o Dopplerfluxometria fetal, têm sido usados para identificar pacientes com maior potencial para o desenvolvimento da doença (NICOLAIDES *et al.*, 2004; WANG, 1998). A existência de marcadores séricos pré-clínicos da disfunção endotelial em pacientes com fatores de risco para preeclâmpsia também já foi descrita.

Atualmente, a dosagem urinária da proteína, aferida clinicamente pelas proteinúrias de fita e de 24h, ainda são utilizadas como exames para rastreamento, sendo a coleta de 24h, usado como um critério diagnóstico de preeclâmpsia. No entanto, estudos têm demonstrado que a proteinúria de fita é um preditor pobre de complicações maternas e/ou fetais em gestações com

preeclâmpsia (THANGARATINAM *et al.*, 2009), assim como têm baixas sensibilidade e especificidade para rastreamento desta doença (KAPLAN & BALTIMORE WILLIAMS & WILKINS, 1998).

A avaliação urinária dos fatores de angiogênese e de substâncias marcadoras da função renal creatinina e proteína (microalbuminúria) são métodos considerados não invasivos e factíveis na prática clínica. A dosagem urinária dos mesmos e a correlação destes fatores colaboram para o diagnóstico mais precoce de PE.

Motivados pelos inúmeros desafios existentes acerca dos distúrbios hipertensivos da gravidez em nosso Programa de Pós-graduação em Saúde da Mulher, uma importante linha de pesquisa vem estudando a preeclâmpsia na busca da elucidação da sua complexa fisiopatologia. A busca de possíveis preditores, assim como de um possível tratamento não são temas recentes. Entretanto, a pesquisa de marcadores bioquímicos que já vinha sendo realizada em amostra sérica (TEIXEIRA, 2013), agora será investigada na urina.

Nossos estudos multidisciplinares entre a área clínica e básica da pesquisa da preeclâmpsia iniciaram-se com uma abordagem que buscou determinar a existência de associação entre a elevação da pressão arterial e os níveis plasmáticos do peptídeo natriurético tipo A (ANP) e peptídeo natriurético tipo B (BNP), na gestação complicada por esta doença. Nesta análise, observou-se

que o agravamento da hipertensão na preeclâmpsia esteve correlacionado com as concentrações séricas do ANP e BNP, embora os valores do BNP possam ser influenciados pela existência de estado hipertensivo prévio (REIS, 2003).

Em sequência, (TEIXEIRA *et al.*, 2007) realizaram estudo para avaliar os níveis plasmáticos dos fatores angiogênicos, VEGF e PIGF em gestantes com e sem preeclâmpsia, a fim de correlacionar possíveis alterações nas concentrações sanguíneas destes marcadores com o quadro hipertensivo de gestantes. Nesta abordagem, foi verificado que o PIGF pode exercer papel determinante na pressão arterial média em gestantes com preeclâmpsia (TEIXEIRA *et al.*, 2008).

Posteriormente, Teixeira *et al.* (2013), em estudo também realizado na Maternidade do Hospital das Clínicas da UFMG, demonstra nas gestantes que o uso de Dopplerfluxometria de artérias uterinas associadas à dosagem de fatores pro e anti-angiogênicos como possíveis preditores para o desenvolvimento de preeclâmpsia. Ainda nesta linha, Brandão *et al.* (2011), na busca de um preditor biofísico da preeclâmpsia, procuraram avaliar a disfunção endotelial ocorrida na preeclâmpsia, através do exame da dilatação fluxo-mediada da artéria braquial (DILA) e da Dopplerfluxometria de artérias uterinas na primeira metade da gestação, mostrando ser o DILA um exame de grande valor para a propedêutica e acompanhamento da função endotelial.

A procura de novos elementos para a elucidação da fisiopatologia de uma condição clínica tão desafiadora e com repercursões na morbimortalidade

materna e perinatal, por pesquisadores tanto da área básica quanto da área médica fizeram-me atentar para a importância do tema. Durante todos estes trabalhos, estive pessoalmente envolvida em estudos como colaboradora e/ou responsável técnica. Ao iniciar a residência de Ginecologia e Obstetrícia em 2008, pude acompanhar de perto a gestação e seu desfecho, nem sempre feliz, em muitas gestantes.

A partir desse interesse pessoal, minha oportunidade de colaborar em estudos na área de preeclâmpsia como o de Brandão *et al.* (2011,2012). Neste, foi avaliada a vasodilatação de leitos arteriais específicos, como o da artéria oftálmica e a alteração no exame DILA e da dopplerfluxometria de pacientes com preeclâmpsia, demonstrando impacto na resposta vascular vasodilatadora, adjuvante aos inibidores da enzima conversora de angiotensina (iECAs) e aos bloqueadores do receptor AT1 (BRAs) que atuam sobre a proteção endotelial e promovem a recuperação parcial de endotélio lesado.

Dentro da linha de pesquisa que investiga o comportamento das substâncias pro e anti-angiogênicas no organismo gravídico pensamos em um estudo que utilizasse a urina como amostra clínica e a procura dos níveis urinários destas substâncias no decorrer da gestação e no desfecho desta, a fim de nos ajudar na diferenciação das outras formas de hipertensão que cursam com proteinúria na gravidez. Assim, aliando minha experiência técnica em laboratório de pesquisa experimental nas dosagens pioneiras de substâncias que demandam padronização de técnicas necessárias para utilização da urina como matéria

prima, aos meus conhecimentos médicos recém-adquiridos como ginecologista obstetra e, sobretudo aos meus anseios em elucidar mais um pouco sobre a preeclâmpsia, é que aceitei os desafios do presente estudo, requisito fundamental de meu doutoramento.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A PREECLÂMPسيا E SEUS PREDITORES CLÍNICOS

A PE é uma síndrome hipertensiva de elevada morbimortalidade materno fetal, de etiologia ainda indefinida e que acomete 2% a 10 % das gestações em países desenvolvidos e 10-15% em países em desenvolvimento (GAROVIC, *et al.*; ESPINOZA, *et al.* 2007). Considerada a complicação clínico-obstétrica mais comum, ela caracteriza-se por disfunção endotelial sistêmica, que se manifesta clinicamente com hipertensão arterial e proteinúria (GORNALL; BARDAWILL & *cols.*, 1977).

A principal teoria sobre a etiologia da preeclâmpsia é que ela decorre de uma anormalidade placentária devido à falha do citotrofoblasto em remodelar as arteríolas espiraladas em fase precoce da gestação, o que irá resultar em hipóxia tecidual com a produção de fatores mediadores como as citocinas angiogênicas (GRANFER, 2001). Os fatores angiogênicos são secretados pelas células da placenta e pelos linfócitos NK na decídua materna. Os principais fatores envolvidos são o VEGF e o PLGF, que além de estimularem o surgimento de novos vasos, contribuem para a manutenção da estabilidade do endotélio e reparação de lesões endoteliais. Esses fatores exercem suas funções através da ligação com receptores presentes na superfície das células endoteliais, conhecidos como Flt-1 ou fms-like tirosino kinase do tipo 1. Também foi demonstrado que na pré-eclâmpsia, apesar da concentração dos fatores angiogênicos estar aumentada, eles não se ligam aos receptores porque a

concentração de uma variedade do receptor, o sFlt-1, está muito aumentada, impedindo a sua ligação das citocinas angiogênicas, diminuindo assim a ação destas. (MAYNARD, 2003; CORRÊA JR, *et al*, 2009).

Clinicamente, a PE apresenta-se com aumento da pressão arterial e elevação da proteína urinária após a 20ª semana de gestação. Entretanto, a falha no desenvolvimento placentário é resultante de um processo que se inicia durante a primeira onda de invasão trofoblástica entre 12 sem e 14 semanas ou na segunda metade, entre a 16ª sem e 20ª semanas de gestação. A falha na dilatação das artérias espiraladas faz com que os vasos da placenta permaneçam com alta capacidade contrátil, passando a funcionar como vasos de alta resistência ao fluxo de perfusão placentária (CROSS, 2006).

Na PE, a placenta se apresenta com alteração na produção equilibrada de fatores angiogênicos (KAUFMANN; BLACK & HUPPERTZ, 2003) resultando num quadro de disfunção endotelial exacerbada. O aumento do receptor livre do VEGF (sFlit-1) e a redução de PlGF (KOGA, *et al.*, 2003; LAM; LIM & KARUMANCHI, 2005) e VEGF, assim como da produção de fatores relaxantes do endotélio como o NO, estão associados a esta disfunção. Assim, para manter uma oxigenação adequada, a placenta necessitará de mecanismos de compensação, como o aumento de fatores protetores do endotélio como as endotelinas e tromboxanos (LAFAYETTE *et al.*, 1998). A participação intensa dos fatores antiangiogênicos (sFlit-1) acaba por anular os efeitos da tentativa de remodelação vascular, limitando o efeito protetor endotelial promovido pelo

VEGF e PIGF (LEVINE, 2004; 2005), acarretando em diminuição do fluxo e aumento da resistência vascular que são manifestados como hipertensão, edema e proteinúria.

Considerando que a PE é uma doença sistêmica e multifatorial, considerada uma síndrome que acomete vários órgãos, a avaliação dos sítios acometidos reflete a situação real do principal órgão alvo que é a placenta (LINDHEMER, & ROBERTS, 2009). Acredita-se que a redução da perfusão placentária e a hipóxia, de certa forma, estariam relacionadas à liberação de fatores na circulação materna responsáveis pela disfunção endotelial sistêmica (DAVIS, *et al.*; PERICO *et al.*, 2005; SANDRIM, *et al.*, 2008).

Desta forma, o estudo de um dos órgãos envolvidos na doença ou de produtos de sua excreção pode fornecer dados importantes sobre a regulação das substâncias produzidas ou deficitárias nesta doença. Numa paciente acometida pela preeclâmpsia, os alvos são o coração, o fígado e os rins. Nestes, podem ocorrer alterações morfofuncionais devido à disfunção endotelial e vasoespasmos, acarretando liberação de substâncias que promovem alterações vasculares profundas (MAYNARD, *et al.*, 2003).

O vasoespasmo e a hemoconcentração encontrada nestas gestantes com preeclâmpsia estão associados à contração do espaço intravascular resultando em aumento da resistência vascular periférica com conseqüente hipertensão,

redução da filtração glomerular, do fluxo sanguíneo renal, da proteinúria, do decréscimo da pressão oncótica, do aumento de creatinina plasmática e oligúria (MAYNARD, *et al.*, 2003; NHBPEPWG, 2000). Assim, diante de uma suspeita de preeclâmpsia, tais alterações são passíveis de serem analisadas indiretamente através de exames complementares, a fim de avaliar o acometimento dos órgãos alvos devido à injúria endotelial ocorrida.

Para avaliação da função hepática temos as dosagens séricas das transaminases (TGO e TGP), para avaliação da função renal temos as dosagens da excretas nitrogenadas (ácido úrico, uréia e creatinina). Na verificação indireta do espaço intravascular e situação de hemoconcentração e de hemólise realiza-se o hemograma (hemoglobina, hematócrito e plaquetas) e as dosagem de bilirrubinas e desidrogenase láctea. Por fim, as dosagens urinárias de proteinúria de 24h e de amostra isolada, o clearance de creatinina e a podocitúria estão associadas ao dano renal caracterizado como endoteliose glomerular e a perda de células epiteliais glomerulares, os podócitos (POLLIOTTI, 2003).

As próprias alterações sistêmicas atribuídas à preeclâmpsia, especialmente em sua fase pré-clínica têm sido utilizadas como marcadores. Substâncias específicas podem antecipadamente refletir a função do órgão já acometido. Estudos têm avançado no intuito de se avaliar a função dos sítios afetados em estágios ainda incipientes da doença, ou seja, em sua fase assintomática e sem sinais clínicos clássicos. Entre as pesquisas mais promissoras temos as que

estão relacionadas aos fatores de angiogênese (ROBERTS & LAIN, 2002; SAFLAS; OLSON, 1990).

Além disto, existem fatores de risco iminente clínico-epidemiológicos associados à presença de algum grau de alteração vascular já instalada como a obesidade (IMC > 30), a idade \geq 35 anos, a história de preeclâmpsia em gestação anterior, hipertensão arterial crônica, doença renal crônica, o diabetes, gemelaridade ou à fatores genéticos e autoimunes como a nuliparidade, primiparidade/primipaternidade, raça não branca e o Lúpus. Tendo em vista esta multiplicidade de fatores que podem predispor a mulher gestante a desenvolver a doença, temos também os fatores epidemiológicos paridade, gemelaridade, nível sócio-econômico, principalmente no que se refere ao acesso aos serviços de saúde; estado nutricional; entre outros (GONÇALVES *et al.*, 2005).

Neste rol, a existência de um distúrbio hipertensivo prévio à gestação é considerada um importante preditor clínico do seu agravamento, associado à superposição da preeclâmpsia. Na hipertensão arterial crônica, as crises hipertensivas são geralmente desencadeadas por aumentos súbitos da resistência periférica, por qualquer mecanismo, que provoque rápidas elevações de pressão arterial, impedindo adaptações hemodinâmicas. Nas gestantes com hipertensão crônica, as crises hipertensivas podem ocorrer com menor intensidade do que nas pacientes com quadro puro de preeclâmpsia, uma vez que nas primeiras, podem existir alterações vasculares prévias como hipertrofia

e remodelação, o que elevam o limiar de auto-regulação do fluxo sanguíneo e permitem a adaptação dos órgãos alvo (ASSIS, 2008).

Por outro lado, do ponto de vista laboratorial, alterações endoteliais, provocadas pela agressão mecânica da hipertensão arterial crônica, aumentam a produção local de vasoconstritores, determinando uma hiperatividade vascular que pode provocar aumento adicional da resistência periférica, com elevações abruptas da pressão arterial, aumento de substâncias pró-inflamatórias indutoras do crescimento celular (citocinas e moléculas de adesão). Fenômenos proliferativos desencadeados, substâncias agregantes e estados trombóticos microvasculares, aumentando mais ainda a resistência periférica, agravando a hipertensão e exarcebando a isquemia e a deterioração dos órgãos-alvo (ESPINOZA; ROMERO *et al.*, 2004).

A hipertensão arterial crônica com preeclâmpsia sobreposta seria também para a gestante uma sobreposição de fatores que pioram substancialmente o seu endotélio, com prejuízo do fluxo de vários órgãos maternos, placentário e conseqüentemente fetal. Observa-se assim, um risco iminente de vida, devido a deterioração rápida de órgãos-alvo (SAVITZ, 2014).

2.2 OS FATORES DE ANGIOGÊNSE NA PREECLÂMPSIA

Em situações de hipóxia, como ocorre na preeclâmpsia, a placenta libera citocinas que apresentam ações por via autócrina e parácrina (CHAMBERS, 2003). Estas substâncias atuam promovendo o relaxamento vascular através da liberação de óxido nítrico (NO), ao se ligarem ao receptor de membrana sFlit-1. A ação antagonista exercida pela ligação das proteínas pró-angiogênicas livres ao receptor com domínio citoplasmático sFlit-1, acarreta inadequação no processo de remodelação vascular (LEVINE, 2004).

A forma solúvel de receptor fms-like tirosine kinase (sFlit-1) é capaz de regular mecanismos na placenta de mulheres com gestações complicadas por preeclâmpsia (ZHOU *et al.*, 2002) e apresenta um aumento sérico em 5-6 vezes em pacientes com preeclâmpsia em relação às gestantes normotensas (SHARON *et al.*, 2003). Também foi demonstrado que sFlit-1 administrado em ratas grávidas e não grávidas foi capaz de produzir hipertensão, síndrome nefrótica e proteinúria semelhante a endoteliose glomerular, semelhante às alterações encontradas na fase de injúria renal da pré-eclâmpsia (MAYNARD, 2003) enquanto a administração de VEGF 121 mostrou efeito significativo na reversão do quadro de hipertensão e proteinúria em modelos semelhantes de animais (WOODS *et al.*, 2011).

O aumento sérico de sFlit-1 e diminuição sérica e urinária de PIGF precedendo o desenvolvimento clínico desta síndrome (SHARON *et al.*, 2003), assim como

o aumento sérico e placentário do sFlit-1 correlacionado à diminuição da fração livre de VEGF e PlGF (TSATSARIS *et al.*, 2003), em vários estudos, sugerem a ação antagonista deste receptor livre sobre estes fatores angiogênicos. Assim, podemos dizer que o excesso de sFlit-1 tem sido responsabilizado pela disfunção endotelial materna, além de achados clínicos fundamentais da preeclâmpsia como o de proteinúria e falência renal, por diminuir a ação remodeladora dos fatores VEGF e PlGF, já descrita anteriormente (MAYNARD, 2003).

Estudos prévios de nosso grupo de pesquisa (TEIXEIRA *et al.*, 2013) demonstraram haver diminuição de aproximadamente três vezes na concentração sérica de PlGF ($p < 0,001$) e aumento do sFlit-1 ($p = 0,003$) em gestantes com preeclâmpsia, quando comparadas à gestantes normotensas e hipertensas sem proteinúria. Na preeclâmpsia, a presença do receptor livre do VEGF (sFlit-1) mostra-se associada à gênese da lesão endotelial sistêmica, por formar complexos inativos com o VEGF e PlGF, diminuindo a capacidade vasodilatadora e remodeladora destas substâncias, acarretando vasoconstrição e coagulopatia. (CHAIWORAPONGSA, 2003; LAM; LIM & KARUMANCHI 2005; LEVINE; MAYNARD, 2004). Esse antagonista (sFlit-1), ao formar complexos inativos com o VEGF e PlGF, fatores importantes da mitose do endotélio vascular, inibe a ação destas substâncias. Embora o verdadeiro mecanismo do dano vascular e sistêmico que ocorre ainda esteja sobre investigação, muitos estudos têm sido direcionados para a dosagem destas substâncias como possíveis marcadores de predição e de gravidade da pré-eclâmpsia (POLLIOTTI; SHARON, 2003).

Foi verificado em gestantes, que a diminuição da concentração de PLGF e o aumento do sFlit-1 séricos, antecedem em cinco semanas o aparecimento dos sintomas clínicos da preeclâmpsia (MAYNARD, 2003; KENDAL, 1996). Nicolaides *et al.*, 2011 realizaram um estudo utilizando avaliação ultrassonográfica da dilatação da artéria braquial fluxo mediada (DILA) e a concentração sérica dos fatores de crescimento placentário e endoglin solúvel, sendo observados a diminuição da concentração de PIGF e aumento do Endoglin séricos em pacientes com desfecho de PE, aproximadamente 10 semanas antes do surgimento da disfunção endotelial (MAYNARD, 2003; NICOLAIDES, 2008).

Kendal, 1996 posteriormente, verificou que estas substâncias pró e anti-angiogências, poderiam também ser detectadas na urina, refletindo assim o perfil plasmático e placentário das gestantes com PE (BUHIMSCHI *et al.*, 2005; LEVINE *et al.*, 2006).

Outro achado relevante é a endoteliose glomerular, achado patognomônico da PE, que possivelmente possa ser reflexo da exposição do endotélio do glomérulo renal ao excesso de sFlit-1 e redução da exposição ao PIGF, o que poderia ser avaliado precocemente, através da mensuração destas substâncias na urina (BROWN, 1990).

Um avanço no conhecimento dos mecanismos das alterações endoteliais e nefróticas que resultam no aparecimento da proteinúria motivam a busca pelo estudo dos fatores de angiogênese como o de marcadores pré-clínicos em potencial para uso na prática diária. Dentre os fatores envolvidos com as alterações endoteliais, o VEGF, que é um potente fator pró-angiogênico que desempenha uma importante função no desenvolvimento vascular assim como outro membro da família o PlGF, que apresenta importante função nos estágios mais tardios de desenvolvimento vascular (LEVINE, 2006).

2.3 MARCADORES URINÁRIOS DA PREECLÂMPSIA

2.3.1 PROTEINÚRIA

As proteínas constituem uma das substâncias específicas presentes no plasma. Apresentam três tipos principais: albuminas, globulinas e o fibrinogênio, cada uma delas com suas características próprias. O fibrinogênio é uma proteína do plasma que tem origem exclusiva no fígado. As demais frações protéicas são originárias do fígado, dos órgãos hematopoiéticos, do intestino e, provavelmente, de outros órgãos. A função das proteínas no organismo está relacionada com a coagulação sanguínea, com a manutenção do equilíbrio hídrico e osmótico, principalmente pela albumina e na defesa do organismo, função da gamaglobulina (THONKS, 1983).

Anormalidades da concentração de proteína no organismo como a hipoproteinemia são devidas principalmente à baixa de albumina com decréscimo da pressão oncótica enquanto a hiperproteinemia ocorre devido à elevação das frações da globulina. Nos casos de desnutrição, de edema da fome, nas hipoproteinemias experimentais, a fração albumina diminui muito, mas com a alimentação rica em proteínas, há aumento rápido da albumina (GORNALL & BARDWILL, 1977).

A quantificação sérica ou urinária da proteína nos mostra o funcionamento de órgãos envolvidos na formação protéica pelo fígado, no metabolismo desta substância como o intestino e na depuração como os rins, principalmente quando há acometimento da membrana glomerular diante de patologias (GORNALL & BARDWILL, 1977). Assim, alterações funcionais em órgãos-alvo acometidos na preeclâmpsia podem ser avaliadas através de dosagens laboratoriais de proteínas na urina ou no sangue de pacientes acometidos por esta doença.

As principais técnicas de dosagens laboratoriais de proteína na urina são a microalbuminúria de fita e a de 24h e a medida de proteína e albumina (CARL, 1994). A proteinúria é tipicamente na gestação definida como a excreção de proteína numa taxa de 300 mg/dia ou pelo menos +1(300 mg/dl) em amostra aleatória. Quando acima de 2g, a proteinúria é considerada maciça, sendo um marcador da forma grave da PE (NHBPEPWG, 2013).

De uma maneira geral, a proteinúria é a mais comum manifestação da doença renal. Adultos saudáveis excretam aproximadamente 80 mg/dia de proteína que é composta, primariamente pelo tipo *Tamm Horsfall* produzida pelos rins em pequenas quantidades de albumina e outras proteínas circulantes como as imunoglobulinas (CARL, 1994). A excreção de proteína e albumina glomerular em adultos saudáveis é menor do que 30 mg/dia (NHBPWG, 2013). Alterações na barreira glomerular que permitem a passagem de proteínas caracterizam a síndrome nefrótica. Estas alterações resultam da alteração na seletividade da passagem de solutos através do glomérulo através das suas células endoteliais, os podócitos. A superfície das células endoteliais é coberta por uma superfície chamada glicocálice. A membrana basal glomerular é composta por uma região de laminina e várias proteoglicanos que apresentam forte carga negativa. As fenestras da membrana basal glomerular medem aproximadamente 300–350nm (GUYTON & HALL, 2006). Quando há injúria renal, característica da pré-eclâmpsia, a barreira de filtração renal é danificada e permite a passagem de proteínas de grande peso molecular (THANGARATINAN *et al.*, 2009).

Ao longo dos anos a composição da urina tem sido estudada a fim de identificar o sítio e caracterizar o substrato da lesão renal. Proteínas de baixo peso molecular como β -2 microglobulinas são livremente filtradas e conseqüentemente reabsorvidas pelas células dos túbulos proximais. A presença destas proteínas na urina é indicativa de dano tubular renal. (CHRISTENSEN, 1981; 1983). Assim, a proteinúria de origem glomerular ocorre quando a capacidade dos túbulos renais em absorver as proteínas filtradas torna-se saturada devido a dano celular ocorrido.

A PE é diferenciada da hipertensão gestacional pela presença da proteinúria, reflexo da perda da integridade da barreira de filtração glomerular definida como excreção de proteína significativa a perda urinária maior ou igual a 300 mg /24h e atualmente, a preeclâmpsia grave é classificada quando a proteinúria excede 5 g/dia. (SCHIFF; SIBAI, 1996, ACOG 2013;). Embora estudos recentes sugiram que o aumento da relação proteína/creatinina está frequentemente associado a distúrbio renal materno este achado não é relevante clinicamente [OR 1.003 (CI 1.002–1.004)]. (CHAN; BROWN, 2005).

2.3.2 CREATININA URINÁRIA

A creatinina é um dos produtos do metabolismo nitrogenado e deve ser removida do corpo continuamente através dos rins. A constância na formação e excreção da creatinina faz desta substância um marcador muito útil de função renal, principalmente da filtração glomerular, em virtude da sua relativa independência de fatores como dieta, grau de hidratação e metabolismo protéico (GUYTON & HALL, 2006). A determinação da creatinina nas doenças renais mostra elevações mais vagarosas quando comparados à uréia e a sua depuração é mais lenta. A sua elevação indica disfunção renal e o grau de evolução da enfermidade.

Na PE, o principal sítio de injúria renal é o glomérulo (NHBPEPWG, 2013). Na vigência de disfunções glomerulares, como ocorre nesta doença, observa-se a

diminuição do ritmo de filtração glomerular, proteinúria e hipertensão e, se o rim tem sua estrutura glomerular danificada, conseqüentemente há o aumento da excreção de creatinina o que pode ser facilmente identificado e mensurado em ensaios bioquímicos (LAFAYETTE, 1998).

2.3.3 FATORES DE ANGIOGÊNESE NA URINA

Na PE, o rim é um dos órgãos mais acometidos. O estudo dos fatores de angiogênese VEGF, sFlit-1 e PlGF na regulação da fisiologia glomerular renal tem crescido nos últimos anos. Sabe-se que o rim humano expressa RNAm para VEGF e seus receptores, predominantemente nos podócitos glomerulares, túbulos distais, e túbulos coletores. Estudos demonstram que a mensuração das substâncias envolvidas na angiogênese e vasculogênese e que estão presentes na urina das gestantes antecede cerca cinco a onze semanas o diagnóstico da preeclâmpsia (LEVINE *et al.*, 2004). Assim, a urina que é produto de excreção renal, se mostra como grande carreadora das substâncias sistêmicas produzidas nos demais órgãos acometidos, mas também como expressão renal da doença.

Fatores de angiogênese estão presentes na circulação sistêmica materna em situações de hipóxia e interagem com o endotélio desencadeando profundas mudanças. Quando presentes no sangue e na urina parecem refletir as alterações do ambiente placentário (ASSIS, 2008). Assim, a excreção dos fatores angiogênicos na urina, podem ser também reflexo indireto da síntese placentária.

A procura destas substâncias na urina, como preditoras da preeclâmpsia, foi avaliada através da técnica de radioimunoensaio (RIE), mostrando que a doença está associada ao aumento da excreção urinária de sFlit-1 e diminuição de PIGF concomitante ao aparecimento dos sintomas clínicos, diminuindo a necessidade de realização de outros exames de rastreamento e sendo de maior acurácia do que a medida da proteinúria de fita (BUHIMISCHI, 2004).

Diante destes resultados podemos inferir que a alteração dos fatores de angiogênese, VEGF, PIGF e sFlit-1, estariam diretamente relacionados ao desenvolvimento da preeclâmpsia. Portanto, testamos a hipótese de que sua concentração urinária seria um marcador precoce (antes de 20 semanas de gestação) do surgimento da doença e acreditamos que o estudo poderá também elucidar os mecanismos envolvidos nesta doença.

Acreditando no potencial dos marcadores bioquímicos urinários como preditores pré-clínicos da preeclâmpsia e na expectativa de um horizonte de maior praticidade da análise do espécime urinário durante o cuidado pré-natal, a análise conjunta de preditores clínicos e bioquímicos amplia as possibilidades de intervenções mais oportunas capazes de amenizar as complicações maternas e perinatais associadas a esta condição.

3. OBJETIVOS

- 1- Avaliar a relação entre marcadores bioquímicos urinários de angiogênese, sFlit-1 e PIGF, a concentração de creatinina e a microalbuminúria como possíveis preditores de preeclâmpsia, em grupo de gestantes de risco.
- 2- Verificar a importância de fatores preditores epidemiológicos, clínicos e bioquímicos de excreção urinária na predição da preeclâmpsia, de forma isolada e combinada.

4. PACIENTES E MÉTODOS

4.1 PACIENTES

Em um estudo observacional longitudinal prospectivo, uma coorte de mulheres grávidas foi recrutada, na primeira consulta no pré-natal, para participar do estudo. A seleção foi realizada segundo critérios de elegibilidade para um maior risco de preeclâmpsia. O estudo se desenvolveu no Ambulatório Jenny de Andrade Faria do Hospital das Clínicas da UFMG. As gestantes foram seguidas até o parto quando o desfecho de interesse foi conhecido, a ocorrência de preeclâmpsia.

4.1.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram convidadas gestantes que iniciaram o pré-natal durante a primeira metade da gestação, IG \leq 20 semanas, com gravidez única e não tabagistas, nas quais foram identificadas pelo menos um dos fatores de risco para desenvolvimento de preeclâmpsia:

História obstétrica:

Nuliparidade

Primiparidade

Primipaternidade

História de preeclâmpsia em gestação anterior;

Obesidade, avaliada por $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$;

Idade ≥ 35 anos;

Raça não branca;

Portadora de hipertensão arterial crônica.

Para datação da gestação, o cálculo da idade gestacional foi realizado de acordo com a data da última menstruação, através da regra de Nagele e/ou corrigida através de exame de ultrassom, realizado na primeira metade da gravidez. A definição de hipertensão arterial crônica na gestação seguiu critérios do Colégio Americano de Ginecologia e Obstetria (ACOG, 2013).

4.1.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídas do estudo gestantes que apresentaram condições durante a gestação capazes de interferir na interpretação dos valores bioquímicos de interesse ou que não atingiram a segunda metade da gestação:

Diabetes gestacional;

Doenças autoimunes;

Abortamentos.

Foram consideradas perda de seguimento o abandono do estudo por livre vontade e a impossibilidade de acesso aos dados do nascimento.

4.1.3 SEGUIMENTO DAS GESTANTES

As gestantes foram acompanhadas segundo protocolo de atendimento da rotina de pré-natal do serviço, com consultas mensais e ao final da gestação semanais, até a resolução, seja ela em parto, aborto ou abandono do pré-natal. Para fins da presente investigação as condições clínicas foram avaliadas em três momentos:

Primeira abordagem: recrutamento, realizado o mais precocemente possível, até 20 semanas de gestação;

Segunda abordagem: após 20 semanas gestacionais;

Terceira abordagem: no momento do parto, por busca ativa de dados do parto e diagnósticos de interesse, em várias maternidades de Belo Horizonte, cidades próximas, uma vez que nem todas tiveram sua assistência ao parto realizada no Hospital das Clínicas da UFMG.

A coleta de dados clínicos do pré-natal e parto, com seguimento a partir do recrutamento até o desfecho, coleta de amostras urinárias e dosagens laboratoriais, ocorreu entre setembro de 2009 a março de 2013. Na FIGURA 1 o fluxograma quantitativo do seguimento da coorte foi apresentado de forma esquemática, segundo diagnósticos no momento do parto.

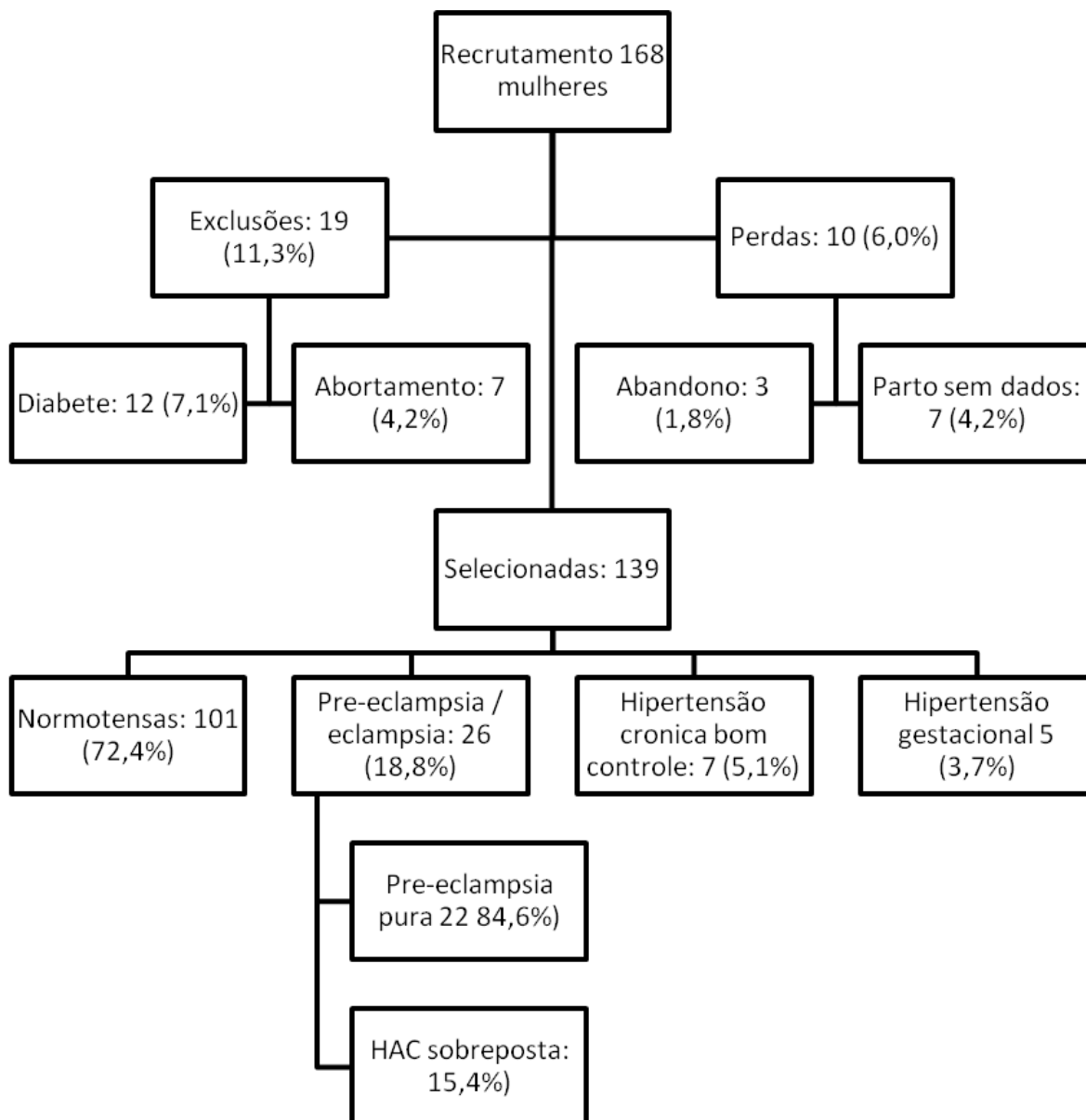


FIGURA 1 – Diagrama de seguimento da coorte de gestantes e agrupamentos segundo desfechos no momento do parto

4.1.4 CRITÉRIOS DE DIAGNÓSTICO E CLASSIFICAÇÃO DA PREECLÂMPسيا

Os desfechos de interesse no seguimento da coorte foram classificados, no momento do parto, em normotensa, PE, Hipertensão arterial crônica, Pré-eclâmpsia sobreposta a Hipertensão arterial crônica ou Hipertensão gestacional, segundo achados clínicos e laboratoriais descritos no QUADRO 1.

QUADRO 1

Crériterios de diferenciação dos estados hipertensivos na gravidez e diagnóstico da preeclâmpsia

Preeclâmpsia	LEVE	Síndrome específica do período gestacional determinada pelo aumento da pressão arterial $\geq 140 \times 90$ mmHg e proteinúria ≥ 300 mg/dl, após 20 semanas.
	GRAVE	Síndrome específica do período gestacional determinada pelo aumento da pressão arterial $\geq 160 \times 110$ mmHg (em duas ocasiões com pelo menos 4 horas de diferença.) e proteinúria ≥ 5 g/dl, após 20 semanas; Plaquetopenia < 100 mil/ μ L; Alteração de função hepática; Alteração de função renal (creatinina sérica $> 1,1$ mg/dL) ou o dobro da concentração prévia, na ausência de doença renal; Edema pulmonar; Início de distúrbios visuais ou neurológicos.
Hipertensão arterial crônica		Pressão alta anterior à gestação de qualquer etiologia: essencial; renovascular; suprarrenal; e aquela diagnosticada pela primeira vez na gestação e sem remissão no pós-parto.
Preeclâmpsia sobreposta à hipertensão arterial crônica		Agravamento súbito dos níveis pressóricos em gestantes hipertensas bem controladas. Aparecimento de proteinúria em gestantes hipertensas.
Hipertensão gestacional		Mulheres que tiveram níveis pressóricos elevados diagnosticado pela primeira vez durante a gravidez e sem proteinúria. Esse diagnóstico é transitório até que apareçam outros sinais da síndrome da pré-eclâmpsia ou a pressão arterial elevada persista após o parto confirmando a quadro de hipertensão crônica.

National High Blood Pressure Education Program Working Group , 2013 (ACOG, 2013).

4.1.5 QUESTÕES ÉTICAS E FINANCIAMENTO DA PESQUISA

A participação foi voluntária e houve consentimento verbal e assinado prévio das gestantes em participar do estudo. Foi requisito fundamental a participação voluntária da mulher bem como a concordância verbal e escrita nos termos do consentimento informado (TCLE). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG, sob o protocolo ETIC 462/08.

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

4.2 MÉTODOS

4.2.1 COLETA DE URINA MATERNA

As gestantes selecionadas tiveram uma amostra de urina coletada, nos três períodos de avaliação clínica, simultaneamente à sua consulta de pré-natal. Foi coletada amostra aleatória de cerca de 50 ml de urina em recipiente estéril sob orientações de limpeza externa com água e sabão. Cerca de 5 ml da urina coletada foi usada para avaliação imediata de microalbuminúria semi-quantitativa em fita teste rápido (Self-Stik®); 5ml de urina pura não centrifugada

e 5ml de urina centrifugada (1000 a 1500 rpm/ 5 a 10 min.) foram congelados para as dosagens dos marcadores urinários PLGF, Sflit-1, creatinina e proteína. Todas as amostras foram armazenadas em freezer -80°C, para as dosagens. A urina residual foi desprezada.

4.2.2 TÉCNICA DE DOSAGEM DA MICROALBUMINÚRIA

A amostra de urina colhida para as demais dosagens, antes do processamento, foi testada quanto à presença de proteinúria, pela fita medidora (tira reagente para uroanálise Self-Stik®) que é um método semi-quantitativo que emprega uma escala de cores associada ao sinal ++. As tiras medem albumina e o princípio do teste é o “erro dos indicadores pelas proteínas para produzir uma coloração colorimétrica visível”. Certos indicadores são capazes de mudar de cor na presença ou ausência de proteínas e o pH permanece constante. Na tira, a área para determinação de proteína contém azul de tetrabromofenol 0,2% e um tampão de ácido para manter o pH em nível constante. Quando o pH = 3 ambos os indicadores ficam amarelo na ausência de proteína. À medida que a concentração de proteína da amostra é maior a cor vai passando por várias tonalidades de verde conforme apresentado no QUADRO 2.

QUADRO 2

Escala visual de proteinúria semiquantitativa

Cor avaliada	Escala simbólica Atribuída	Quantidade relativa associada
	- (negativo)	<150 mg/dl
	-- (traços)	150-300 mg/dl
	+	300 mg/dl
	++	300-500 mg/dl
	+++	500 mg/dl
	++++	1000 mg/dl

(Adaptado da bula do kit de uroanálise Self-Stik®)

4.2.3 TÉCNICA DE DOSAGEM DOS FATORES DE ANGIOGÊNESE PLGF E SFLIT-1 – ELISA

Para as dosagens dos fatores de angiogênese foi utilizado o método de ELISA (*kits* R&D Systems) que é baseado no princípio do “sanduíche” de anticorpos. Para isto foi utilizada uma placa de *enzyme-linked immunoabsorbent assay* (ELISA) para cada fator de angiogênese e na mesma amostra foram dosados simultaneamente o fator de crescimento placentário (PIGF) e o receptor (sFlit-1).

Para dosagens do PIGF, o ensaio foi realizado conforme o protocolo de ELISA, na qual, no primeiro dia 100µl do anticorpo de captura específico (part 840322 estoque 720µg/mL) previamente diluído em tampão PBS a 4 µg/mL foi adicionado a uma microplaca para sensibilização destes anticorpos específicos (escura e úmida / 4o C/*overnight*). No segundo dia, o excesso de anticorpo foi removido por manual com tampão PBS-*tween* 20 (100µl/poço) cinco vezes usando-se pipeta de multicanal. A seguir 300µl de tampão de bloqueio (Reagente Diluente PBS albumina 1% ref. DY 995) foi adicionado à placa. A placa foi vedada e incubada por uma hora em temperatura ambiente (*overnight*). Após esse tempo, o conteúdo da placa foi retirado e novas lavagens manuais foram realizadas com tampão PBS-*tween* 20. As amostras, contendo o antígeno que se deseja quantificar, foram então descongeladas e adicionadas (100µl/poço) em duplicatas aos poços da placa previamente identificados. Foram adicionados o branco (100µl/poço) e os pontos da curva-padrão previamente diluída (1:45) a partir de um padrão estoque (90ng/ml). As diluições seriadas das soluções da curva contendo 8 padrões de concentrações diferentes (16 a 2000pg/ml) foram pipetadas nos orifícios da placa e incubada *overnight* a 4°C. Nesta etapa ocorre a ligação dos antígenos da amostra com os anticorpos aderidos previamente à placa. No dia seguinte, o conteúdo da placa foi removido, repetiu-se o processo de lavagem (cinco vezes) a fim de retirar o excesso da reação e adicionou-se (100µl/poço/ diluído a 60ng/ml), anticorpo de detecção biotilado (part 840323), capaz de detectar a reação anterior entre anticorpo/antígeno, completando-se o “sanduíche” de ELISA. . Esse processo ficou em incubação ao abrigo da luz (2h). Em seguida, o conteúdo dos poços das placas foi aspirado e seguido de novas lavagens (4x), e adicionou-se a

estreptavidina (1:200/100µl/poço) (HRP part 890803). A placa da reação foi coberta com papel alumínio ao abrigo da luz por 20 minutos, procedeu-se a nova lavagem (4x) e adicionou-se a solução substrato (100µl/poço- regente de cor A e regente de cor B 1:1). A reação foi paralisada com a solução de ácido sulfúrico 2N (DY 994) mudando a coloração. Foi realizada leitura em leitor de microplaca de ELISA, em absorbância, num comprimento de onda de 492nm. A conversão de absorbância para pg/ml foi obtida por meio da média aritmética da somatória das absorbâncias.

Para dosagens do sFlit-1, o ensaio foi realizado conforme o protocolo de ELISA, na qual, no primeiro dia um anticorpo de captura específico (100µl) previamente diluído a 1:180 (720µg/ml part 842594) foi adicionado a uma microplaca para sensibilização destes anticorpos específicos (*escura e úmida / 4o C/overnight*). No segundo dia, o excesso de anticorpo foi removido por manual com tampão PBS-*tween* 20 (100µl/poço) cinco vezes usando-se pipeta de multicanal. A seguir 300µl de tampão de bloqueio (Reagente Diluente PBS albumina 1% ref. DY 995) foi adicionado à placa. A placa foi vedada e incubada por uma hora em temperatura ambiente (*overnight*). Após esse tempo, o conteúdo da placa foi retirado e novas lavagens manuais foram realizadas com tampão PBS-*tween* 20. As amostras, contendo o antígeno que se deseja quantificar, foram então descongeladas e adicionadas (100µl/poço) em duplicatas aos poços da placa previamente identificados. Foram adicionados o branco (100µl/poço) e os pontos da curva-padrão previamente diluída a partir de um padrão estoque (85 ng/ml). As diluições seriadas das soluções da curva contendo 8 padrões de concentrações diferentes (x) foram pipetadas nos orifícios da placa e incubada

overnight a 4°C. Nesta etapa ocorre a ligação dos antígenos da amostra com os anticorpos aderidos previamente à placa. No dia seguinte, o conteúdo da placa foi removido, repetiu-se o processo de lavagem (cinco vezes) a fim de retirar o excesso da reação e adicionou-se (100µl/poço), anticorpo de detecção biotinilado (part 842595), capaz de detectar a reação anterior entre anticorpo/antígeno, completando-se o “sanduíche” de ELISA. . Esse processo ficou em incubação ao abrigo da luz (2h). Em seguida, o conteúdo dos poços das placas foi aspirado e seguido de novas lavagens (4x), e adicionou-se a estreptovidina (1:200/100µl/poço) (HRP part 890803). A placa da reação foi coberta com papel alumínio ao abrigo da luz por 20 minutos, procedeu-se a nova lavagem (4x) e adicionou-se a solução substrato (100µl/poço- regente de cor A e reagente de cor B 1:1 ref. DY 999). A reação foi paralisada com a solução de ácido sulfúrico 2N (DY 994) mudando a coloração. Foi realizada leitura em leitor de microplaca de ELISA, em absorvância, num comprimento de onda de 492 nm. A conversão de absorvância para pg/ml foi obtida por meio da média aritmética da somatória das absorvâncias.

Para a dosagem dos marcadores de angiogênese, foram empregados os *kits DuoSet ELISA Development System* (R&D Systems: Elisa/ Assays), que contêm os componentes básicos necessários ao desenvolvimento do “sanduíche” de ELISA para mensurar sflit-1 e PIGF livres:

- *Human VEGF R1/ sflit-1* DY 321 (sensibilidade de detecção da forma livre :77%).
- *Human PIGF* DY 264 (sensibilidade de detecção da forma livre do PIGF: 85%).

A técnica adaptada por colaboradores do Laboratório de Angiogênese do ICB para dosagem de PIGF foi cedida e padronizada para dosagem de urina, segundo o protocolo existente e enquanto a curva para o ensaio para sFlit-1 foi inteiramente padronizado em nosso laboratório para dosagens em urina humana. Esta curva foi construída conforme orientações do fabricante e as diluições foram adequando-se à diluição dos padrões e anticorpos de modo a tornar possível a detecção do sFlit-1 na urina.

4.2.4 TÉCNICA DE DOSAGEM DE CREATININA URINÁRIA

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

(A90) foi realizada em espectrofotômetro (filtro 500nm) antes que os interferentes de reação lenta possam ter efeitos significativos. Esta leitura foi realizada no leitor de ELISA. Desta forma isola-se a formação do complexo creatinina-quelante e a determinação colorimétrica do produto final torna-se livre de interferentes. A solução padrão de creatinina do kit apresenta concentração 2mg/dl. Também foram realizadas 2 leituras deste padrão (Ap 30 e Ap 90) utilizando 100µL da solução estoque a 1ml do reagente de trabalho.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

4.3 MÉTODO ESTATÍSTICO

Cálculo amostral

Para a estimativa, empregou-se a função Statcalc do programa EPI INFO, versão 2006, a amostra foi estimada em 140 gestantes. Os dados de entrada para estimativa amostral de desenho epidemiológico tipo coorte, admitiu os seguintes parâmetros: um erro alfa de 5%, erro beta de 20%, a frequência esperada de Pré-eclâmpsia na população geral em 7% e na população de risco 25% (obtida em estudo anterior no serviço). Considerou-se 150 casos como o número ideal, prevendo-se perdas por critérios de exclusão e abandono de 10%.

Coleta e armazenamento de dados

A gestante recrutada para a coorte foi seguida, de forma paralela ao seu pré-natal, observando-se o comportamento da pressão arterial e com investigação complementar adequada no caso de suspeita de Preeclâmpsia. Dados como peso, altura, cor de pele, história obstétrica, doenças intercorrentes, valores de pressão arterial, idade gestacional, ultrassonografias, proteinúria de fita, dados do parto e suas complicações foram utilizados para compor o banco de dados. O estudo empregou a base eletrônica de apoio aos estudos clínicos, Medquest (<http://newdbserver.med.up.pt/projext/medquest/verprod/index.php>) cedida pela Faculdade de Medicina da Universidade do Porto.

Estatística descritiva

Os dados clínicos e laboratoriais de interesse foram apresentados de forma descritiva através de frequência absoluta e relativa, no caso de dados categorizados. As variáveis numéricas foram descritas através de medidas de

tendência central, média e mediana, valores máximo, mínimo ou desvio padrão, conforme natureza da distribuição da variável. O teste de Kolmogorov Smirnov foi empregado para verificar a probabilidade de distribuição normal.

Estatística analítica

A associação entre fatores epidemiológicos, clínicos e dosagens urinárias foi testada individualmente quanto a sua associação à ocorrência de distúrbios hipertensivos na gestação. Os mesmos fatores foram avaliados quanto à pré-eclâmpsia, forma pura ou sobreposta, sendo nessa situação excluídos os casos de hipertensão gestacional e hipertensão arterial crônica com bom controle no momento do parto. Empregou-se análise de regressão logística binária, com teste de Wald, estimativa de razão de chances, com respectivo intervalo de confiança de 95%.

As dosagens urinárias dos marcadores de pré-eclâmpsia, aferidos na primeira e segunda metade da gestação foram comparadas entre si através do teste-t pareado. Análise comparativa das concentrações aferidas, comparando-se o grupo de mulheres que desenvolveu pré-eclâmpsia em relação às normotensas foi feita com test-t de médias e gráficos ilustrativos foram empregados.

A acuidade dos testes bioquímicos urinários de interesse na predição da pré-eclâmpsia foi avaliada em curva ROC. Para isso determinou-se a área sob a curva, sensibilidade e especificidade. O teste de hipótese avaliou a probabilidade da área sob a curva = 0,5.

O desfecho preeclâmpsia foi tomado como variável dependente e analisado em função dos fatores de risco epidemiológicos, clínicos e laboratoriais selecionados (variáveis independentes). Modelos multivariados por regressão logística foram empregados para estimativa da razão de chances ajustada para os cofatores, com respectivos intervalos de confiança de 95%. A análise multivariada envolveu todas as variáveis preditoras dos modelos univariados, sendo o melhor conjunto capaz de explicar a ocorrência de lacerações graves obtido pela técnica *stepwise backward* (p de entrada e saída 0,10). O ajuste dos modelos e sua calibração foram realizados a partir da hipótese de que todos os coeficientes seriam nulos, pelo teste de bondade *Hosmer-Lemeshow* e pelo coeficiente de determinação (R^2 ajustado). O programa estatístico empregado foi SPSS® 22.0. O nível de significância ajustado para o teste de hipótese foi de 5%.

5. RESULTADOS

Neste estudo de coorte concorrente ou longitudinal, 139 pacientes foram selecionadas e acompanhadas, sendo recrutadas com idade gestacional até 20 semanas e as quais tiveram amostras de urina coletadas para as dosagens. A Tabela 1 nos mostra os resultados dos desfechos clínicos apresentados pelas pacientes acompanhadas até o parto. Foi observado que 101 (72,7%) apresentaram-se normotensas, enquanto 38 (27,3%) gestantes apresentaram alguma síndrome hipertensiva.

TABELA 1

Incidência de doenças hipertensivas nas gestantes acompanhadas (n=139)

Desfechos clínicos	Frequência	Porcentagem (%)
Normotensas	101	72,7
Síndromes hipertensivas	38	27,3
Total	139	100

A Tabela 2 apresenta os dados clínicos das gestantes que compuseram a coorte, analisadas até o momento do parto. Podemos verificar que no momento do recrutamento, o perfil destas mulheres grávidas era idade 26,3 ±7,5 anos, estatura 160,7±7,1 cm, peso 74,3 ±15,9 kg, secundíparas, recrutadas precocemente no primeiro trimestre, ou seja, idade gestacional média de 14 (±4) semanas. Além disto, apresentavam-se com média de pressão arterial caracterizada como normal PAS 112,62 (±14,59) mmHg e PAD 70,55 (±9,45)mmHg.

TABELA 2

Características clínicas e epidemiológicas das gestantes da coorte, no momento do recrutamento (n=139)

Variável clínica	Média ±DP
Idade (anos)	26,3±7,5
Estatura (cm)	160,7±7,1
Peso (kg)	64,7 14,9
IMC (kg/m²)	25,3±5,3
Paridade Mediana (amplitude)	1,5(1-10)
Idade Gestacional* (sem)	13,8±4,1
Pressão arterial Sistólica (mmHg)	112,6±14,6
Pressão arterial Diastólica (mmHg)	70,6±9,5

* corrigida pelo 1o ultrassom

A Tabela 3 apresenta os dados clínicos no momento do parto das gestantes seguidas. Podemos verificar que estas gestantes apresentaram ganho médio no IMC de $3,5 \pm 2,7$ kg/m² e aumento na média da pressão arterial PAS 124,7 $\pm 18,4$ mmHg e da PAD 80,0 $\pm 12,0$ mmHg.

TABELA 3

Características clínicas e epidemiológicas das gestantes da coorte, no momento do parto

Variável clínica	Média \pmDP
Idade (anos)	26,3 \pm 7,5
Peso (kg)	74,2 \pm 15,8
IMC (Kg/m²)	28,8 \pm 6,0
Ganho de peso (IMC)	3,5 \pm 2,7
Idade Gestacional*(sem)	37,4 \pm 3,6
Pressão arterial Sistólica (mmHg)	124,7 \pm 18,4
Pressão arterial Diastólica (mmHg)	80,0 \pm 12,0

*corrigida pelo 1o ultrassom

5.1 MARCADORES CLÍNICOS E BIOQUÍMICOS DAS SÍNDROMES HIPERTENSIVAS

As características clínicas (obstétricas) e bioquímicas das pacientes da coorte foram sumarizadas na Tabela 4. Nesta tabela, a relação dos marcadores de risco clínico avaliados no momento do recrutamento, como a idade acima de 35 anos, obesidade, história de preeclâmpsia prévia, primiparidade foram avaliados. Podemos observar que todos eles estiveram significativamente associados ao estado hipertensivo, no momento do parto. Dentre os fatores de risco avaliados, foi observado que a história progressa de preeclâmpsia aumenta 13 vezes (OR 13,2 [2,66-65.54]) a chance de desenvolvimento de hipertensão na gestação. Outros fatores de relevância são a idade > 35 anos e o $IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$ que aumentam aproximadamente 4 vezes o risco de desenvolvimento (OR 3,58 [1,12-11,44] / OR 3,30 [1,24-8,75]).

TABELA 4

Fatores de risco clínico para desenvolvimento das síndromes hipertensivas na gravidez (n=139)

	N	Normotensas (101)	Hipertensas (38)	p*	Razão chances (IC 95%)
Primigesta (n=40, 28,8%)	139	23(22,8%)	17(44,7%)	0,012	2,75(1,25-6,05)
Pré-eclâmpsia anterior (n=10, 7,2%)	139	2(2%)	8(21,2%)	<0,001	13,2(2,66-65,54)
Adolescência (n=26, 18,7%)	139	19(18,8%)	7(18,4%)	0,958	1,03(0,39-2,68)
Idade >35 anos (n=13, 9,4%)	139	6(5,9%)	7(18,9%)	0,032	3,58(1,12-11,44)
Raça não-branca (n=86, 61,9%)	139	62(61,4%)	29(63,2%)	0,898	0,93(0,43-2,00)
Primipaternidade (n=13, 9,4%)	138	10(10,0%)	3(7,9%)	0,706	1,30(0,33-4,99)
Hipertensão arterial prévia (n=11, 7,9%)	139	0	11(28,9%)	...	---
IMC ≥ 30 Kg/m² (n=20, 14,7%)	121	10(10,1%)	10(27,0%)	0,017	3,30(1,24-8,75)

*Teste de Wald para regressão logística. Os dados são apresentados em termos de número absoluto (n) e frequência relativa (% ou /1000) e pelo seu valor máximo, mínimo e médio. PE: preeclâmpsia; n= número de partos que contém informação sobre a característica avaliada.

As dosagens urinárias realizadas nas gestantes, separadas conforme desenvolvimento ou não de alguma síndrome hipertensiva, estão apresentadas na Tabela 5, em seus valores médios e desvios padrões. Na coorte acompanhada, podemos observar, conforme dados desta tabela, que os resultados da dosagem urinária de sFlit-1 realizada nas gestantes recrutadas para o estudo não apresentou uma diferença estatística significativa ($p=0,088$) entre as gestantes normotensas quanto às que desenvolveram algum distúrbio hipertensivo até o momento do parto. Também não houve diferença estatística significativa da concentração urinária de PIGF das gestantes antes e depois de 20 semanas, tanto no grupo de pacientes normotensas quanto no de pacientes que desenvolveram alguma síndrome hipertensiva. A dosagem da creatinina realizada na urina da gestante recrutada para o estudo antes de 20 semanas, demonstrou haver uma diferença entre a média de excreção de creatinina nas pacientes normotensas (44,2 mg/dl) em relação às pacientes que desenvolveram preeclâmpsia (106,1 mg/dl), ou seja, existe uma relação entre o aumento da excreção urinária de creatinina na primeira metade da gestação com a chance de desenvolver alguma síndrome hipertensiva (Tabela 5, $p<0,001$).

TABELA 5

Marcadores bioquímicos urinários para desenvolvimento das síndromes hipertensivas na gravidez

Características clínico-obstétricas	N	Normotensas (101)	Hipertensas (38)	p ^w	Razão chances (IC 95%)
Creat. urinária <20 semanas media(DP)	130	44,2	106,1	<0,001	1,01(1,01-1,02)
Creatinina urinária após 20 semanas	100	51,4	39,5	0,405	0,99(0,99-1,01)
sFlit-1 antes de 20semanas	139	207,4	329,5	0,062	1,0(1,00-1,01)
sFlit-1 após de 20semanas	102	281,1	626,5	1,0	...
PIGF antes de 20semanas	137	120,9	94,8	0,513	0,99(0,99-1,01)
PIGF após de 20semanas	99	250,5	273,3	0,756	1,0(0,99-1,01)
Relação sFlit-1/PIGF (antes de 20semanas)	137	29,9	12,0	0,405	0,99(0,99-1,01)
Relação sFLit-1/PIGF (após 20 semanas)	98	9,2	11,0	0,853	1,01(0,99-1,01)
sFlit-1 após – sFlit1 antes 20 semanas)	101	131,1	58,2	0,853	1,0(1,0-10,1)
PIGF após – PIGF antes de 20 semanas)	98	139,3	148,1	0,885	1,0(1,0-10,1)

Os dados são apresentados pelo seu médio (desvio padrão). N= número de partos que contém informação sobre a característica avaliada; IC intervalo de confiança. ^wTeste de Wald para regressão logística univariada.

Foi realizada a medida semiquantitativa de albuminúria no momento do recurtamento das gestantes e no momento parto, de pacientes com diagnóstico de síndrome hipertensiva. Nos resultados apresentados, foi observado não haver diferença estatística significativa ($p=0,209$) entre a microalbuminúria encontrada nas pacientes hipertensas em relação às que permaneceram normotensas até o momento do parto.

A capacidade preditiva das concentrações urinárias de sFlit-1 e PIGF, tanto para a manutenção do estado de normotensa quanto para o estado hipertensivo de qualquer natureza, na primeira e/ou na segunda metades da gestação foi baixa, sendo a creatinina urinária aferida na primeira metade da gestação o marcador urinário mais relacionado ao desenvolvimento de alguma síndrome hipertensiva (Tabela 5, $p<0,001$; [OR 1,01 (1,01-1,02)]).

5.2 MARCADORES CLÍNICOS E BIOQUÍMICOS DA PREECLÂMPسيا

5.2.1 MARCADORES CLÍNICOS DA PREECLÂMPسيا

Dentre as 38 mulheres hipertensas no momento do parto, 26 (68,4%) desenvolveram preeclâmpسيا. Os demais desfechos possíveis foram: 7 (18,4%) casos de hipertensas crônicas que mantiveram bom controle até o final do estudo e 5 (13,2%) casos de hipertensão arterial gestacional. Dos 26 casos de gestantes cujos registros clínicos cumpriram os critérios de diagnóstico de preeclâmpسيا / eclâmpسيا no momento do parto, 22 (84,6%) eram normotensas na primeira

metade da gestação apresentando o quadro de preeclâmpsia pura, enquanto apenas 4 casos (15,5%) eram hipertensas crônicas e receberam a classificação de hipertensão arterial com preeclâmpsia sobreposta. Destas, tivemos 1(3,8%) caso de Síndrome Hellp e 1 (3,8%) caso de eclâmpsia. Dentre os desfechos clínicos e complicações materno-fetais, foi encontrado neste grupo de gestantes com preeclâmpsia 1(3,8%) caso de descolamento prematuro de placenta e 1(3,8%) caso de internação materna em Unidade de tratamento intensivo (UTI).

A Tabela 6 apresenta os dados de que a via de parto de maior ocorrência nesta coorte de mulheres grávidas foi a vaginal (63,7%) enquanto a via obstétrica cesariana foi 36,3%.

TABELA 6

Tipo de parto das pacientes das gestantes seguidas na coorte

	N	Porcentagem (%)
Parto vaginal	86	63,7
Cesárea	49	36,3
Total	135	100

O grupo de mulheres que desenvolveu preeclâmpsia comparado ao que permaneceu normotenso no momento do parto, mostrou ser possível identificar marcadores epidemiológicos, clínicos e obstétricos (Tabela 7).

Na comparação das características gerais das pacientes normotensas versus preeclâmpsia/eclâmpsia, podemos perceber que as variáveis idade da gestante, idade gestacional e IMC materno, ao recrutamento, foram muito semelhantes entre estes grupos. A idade gestacional em semanas no parto foi menor no grupo de pacientes que desenvolveu preeclâmpsia (35,6 \pm 5,2) em relação às pacientes que permaneceram normotensas (37,8 \pm 3,4) (p =0,033).

O ganho de peso das pacientes no decorrer do estudo foi avaliado através do Ganho de IMC materno (Kg/m²). Foi observado um ganho de peso 1,5 vezes maior no grupo de pacientes que desenvolveram preeclâmpsia (4,8 \pm 4,3) em relação às normotensas (3,2 \pm 2,2) (p=0,020). Outro fator de relevância foi a presença de sintomas, característica clínica para o diagnóstico de preeclâmpsia grave (cefaléia, escotomas ou epigstralgia), houve maior prevalência destes no grupo de pacientes que desenvolveram a doença (p=0,001). O fator de maior relevância foi a pressão arterial, tanto sistólica quanto diastólica, ao recrutamento quanto no momento do parto, cujo valor médio que já se apresentava maior no grupo de pacientes que desenvolveu preeclâmpsia/eclâmpsia (p \leq 0,001) quando comparada ao grupo de pacientes normotensas.

Considerando os indicadores de avaliação da assistência neonatal foi utilizado o Peso do neonato, Internação em UTI neonatal, Apgar de 1º e 5º minutos de vida.

Foi observado diferença no peso do RN entre os grupos, sendo que nas que desenvolveram preeclâmpsia este foi menor ao nascimento ($p=0,008$). Também foi observado diferença significativa na variabilidade da nota de Apgar de 1º minuto entre os dois grupos de pacientes, sendo que o grupo de pacientes normotensas esta nota variou de 1 a 10, enquanto no grupo preeclâmpsia a nota mínima foi 3 e a máxima 10 ($p=0,037$).

Outros dados obtidos em relação ao resultado perinatal, houve um caso de morte intrauterina em gestante que desenvolveu distúrbio hipertensivo e uma ocorrência de óbito neonatal precoce recém nascido de uma gestante com gestação a termo que permaneceram normotensas até o final do estudo.

TABELA 7

Características clínicas e obstétricas dos grupos de estudo: normotensas e com preeclâmpsia, ao final da gestação (n=127)

Características clínico-obstétricas	N	Normotensas	Preeclâmpsia / eclâmpsia	P
		(101)	(26)	
Idade da gestante	127	27(8,0)	26,9(6,1)	0,197
Idade gestacional no recrutamento	124	11,9(2,8)	12,1(3,4)	0,650
Idade gestacional no parto	124	37,8(3,4)	35,6(5,2)	0,033
Pressão arterial sistólica no recrutamento	90	109(9,8)	118(12,8)	0,001
Pressão arterial diastólica no recrutamento	90	68(7,6)	78(8,7)	<0,001
Pressão arterial sistólica no parto	127	117(9,9)	150(15,4)	<0,001
Pressão arterial diastólica no parto	127	76(6,5)	99(10,6)	<0,001
IMC materno no recrutamento	126	24,6(4,8)	25,9(6,0)	0,252
Ganho de IMC materno Kg/m ²	126	3,2(2,2)	4,8(4,3)	0,020
Sintomas de preeclâmpsia	126	12(46,2%)	14(14,0%)	0,001**
Internação em UTI neonatal	127	5 (5,0%)	2(7,7%)	0,585**
Peso do neonato	91	2968(618)	2566(779)	0,008
Baixo peso ao nascer	127	20(19,8%)	9(34,6%)	0,109**
Apgar de 1 minuto	90	8(1-10)	8(3-10)	0,037***
Apgar de 5 minuto	92	9(1-10)	9(6-10)	0,273***

*Teste-t de médias, **qui-quadrado, ***Teste Mann Whitney

Entre os vários fatores de risco para desenvolvimento para preeclâmpsia descritos na literatura e avaliados no estudo, apresentou diferença estatística significativa ser primigesta ($p=0,008$) estando 3,4 vezes relacionado ao risco de desenvolvimento da doença. O fator de maior relevância ao desenvolvimento da doença foi a história pregressa de preeclâmpsia (Tabela 8; $p =0,002$ 14,9(2,8-79,0)).

TABELA 8

Marcadores clínicos para desenvolvimento da preeclâmpsia (n=127)

	N	Normotensas (101)	Preeclâmpsia (26)	p*	Razão chances (IC 95%)
Primigesta (n=36, 28,3%)	127	23(22,8%)	13(50,0%)	0,008	3,4(1,4-8,3)
Preeclâmpsia anterior (n=8, 6,3%)	119	2(2%)	6(23,1%)	0,002	14,9(2,8-79,0)
Adolescência (n=22, 17,3%)	127	19(18,8%)	3(11,5%)	0,387	0,6(0,2-2,1)
Idade >35 anos (n=10, 7,9%)	127	6(5,9%)	4(15,4%)	0,124	2,88(0,8-11,1)
Raça não-branca (n=76, 59,8%)	127	62(61,4%)	14(53,8%)	0,485	0,73(0,3-1,8)
Primipaternidade (n=11, 8,7%)	126	10(10,0%)	1(3,8%)	0,341	0,36(0,0-3,0)
Hipertensão arterial prévia (n=4, 3,1%)	127	0	4(15,4%)	...	---
IMC ≥ 30 Kg/m² (n=15, 12,1%)**	124	10(10,1%)	5(20,0%)	0,183	2,2(0,7-7,3)

*Teste de Wald para regressão logística. Os dados são apresentados em termos de número absoluto (n) e frequência relativa (% ou /1000) e pelo seu valor máximo, mínimo e médio. PE: preeclâmpsia; n= número de partos que contém informação sobre a característica avaliada **IMC>30 no recrutamento

5.2.2 MARCADORES BIOQUÍMICOS DA PREECLÂMPسيا

5.2.2.1 AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA CONCENTRAÇÃO URINÁRIA DE CREATININA E DOS FATORES DE ANGIOGÊNESE ANTES E APÓS 20 SEMANAS DE GESTAÇÃO

Considerando-se apenas as gestantes que desenvolveram preeclâmpسيا, adicionadas às que permaneceram normotensas, analisou-se o comportamento das concentrações dos fatores de angiogênese e da creatinina na urina, de amostras colhidas na primeira e na segunda metade da gestação. Entre as normotensas, apenas a concentração urinária de PIGF aumentou de forma significativa com o decorrer da gestação (Tabela 9, $p < 0,001$). No grupo de pacientes que desenvolveu preeclâmpسيا, a concentração de creatinina urinária mostrou-se reduzida na segunda metade da gestação, em relação à primeira metade ($p = 0,007$). Chama atenção o achado de que a concentração urinária média de sFlit-1 tende a valores maiores na segunda metade da gestação ($p = 0,062$) no grupo de gestantes que desenvolveram preeclâmpسيا/eclâmpسيا.

TABELA 9

Comportamento dos fatores de angiogênese e da creatinina urinários, na primeira e segunda metade da gestação, na coorte seguida no estudo (n=127)*

	N	Antes de 20 semanas (101)	Após 20 semanas (26)	p*
Gestantes normotensas				
sFlit-1 (pg/ml), média(EP)	78	229,5±24,5	281,1±74,3	0,503
PIGF (pg/ml) media (EP)	75	123,1±26,9	253,7±29,8	<0,001
Creatinina urinária (mg/dl), media (EP)	76	46,1±5,7	51,3±22,1	0,576
Relação sFlit-1/PIGF, media (EP)	74	38,0±22,1	9,2±5,3	0,190
Gestantes preeclâmpsia				
sFlit-1 (pg/ml), média(EP)	17	213,0±46,5	824,9±313,7	0,062
PIGF (pg/ml) media (EP)	17	82,5±31,7	203,0±115,3	0,189
Creatinina urinária (mg/dl), media (EP)	17	101,5±22,0	33,2±2,6	0,007
Relação sFLit-1/PIGF, media (EP)	17	8,2±2,6	14,8±6,3	0,127

Teste-t pareado

*Gestantes normotensas e com diagnóstico de preeclâmpsia no momento do parto.

5.2.2.2 Avaliação do potencial preditivo das dosagens urinárias dos fatores de angiogênese e da creatinina, por momento da gestação

A análise das dosagens urinárias dos marcadores urinários estudados nas gestantes recrutadas na coorte, separadas conforme a IG, antes e após 20 semanas gestacionais, apresentada nos gráficos abaixo, nos mostra a acurácia de cada um dos marcadores de angiogênese e da creatinina urinários dosados e o potencial deste na predição da preeclâmpsia ou do estado normotenso na gestação.

Tomando-se apenas as amostras coletadas antes de 20 semanas gestacionais, foi possível observar que a concentração urinária média de sFlit-1 já se encontrava aumentada nas gestantes que iriam desenvolver preeclâmpsia, em relação às que permaneceriam normotensas no momento do parto (Gráfico 1, $p=0,037$).

Na segunda metade da gestação, esta diferença também foi observada, ou seja, as concentrações urinárias médias de sFlit-1 permaneceram aumentadas nas gestantes que desenvolveriam preeclâmpsia no parto em relação às demais (Gráfico 2, $p=0,013$).

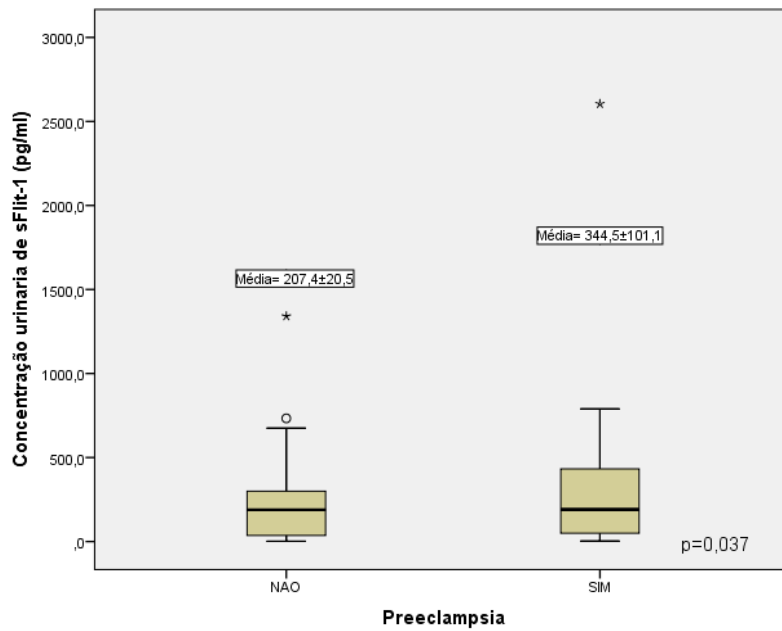


GRÁFICO 1

Concentrações urinárias de sFlit-1 no primeiro trimestre gestacional, comparando-se o grupo que desenvolveu preeclâmpsia com o que permaneceu normotenso no parto

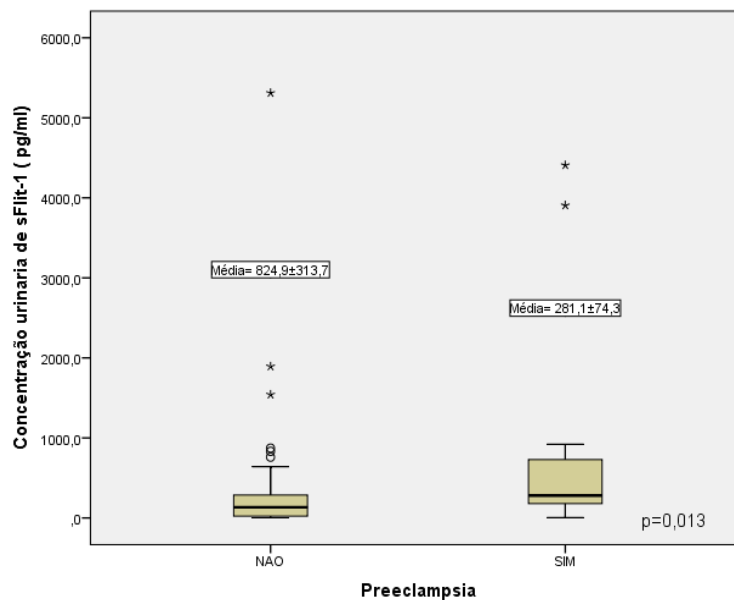


GRÁFICO 2

Concentrações urinárias de sFlit-1 no segundo trimestre gestacional, comparando-se o grupo que desenvolveu preeclâmpsia com o que permaneceu normotenso no parto

Tais diferenças apontam para o potencial da concentração urinária de sFlit-1 como um preditor de preeclâmpsia. Para isto, realizou-se o estudo destas dosagens utilizando-se a curva ROC (Figura 2). No entanto, observou-se que a dosagem antes de 20 semanas, corresponde a área sobre a curva ROC de 0,48 (IC95%=0,33-0,63; p=0,789), portanto sem valor clínico. No entanto, constatou-se que, para a dosagem após 20 semanas, a área sobre a curva ROC foi de 0,69 (IC95%=0,55-0,84; p=0,013), ou seja, com potencial de utilização deste marcador na prática clínica. A análise do equilíbrio entre sensibilidade e especificidade apontam para um ponto de corte de $\geq 48,4\text{pg/ml}$ para concentração urinária sFlit-1 em predizer o desenvolvimento da preeclâmpsia (Tabela 10, S: 94,1%; E: 34,6%).

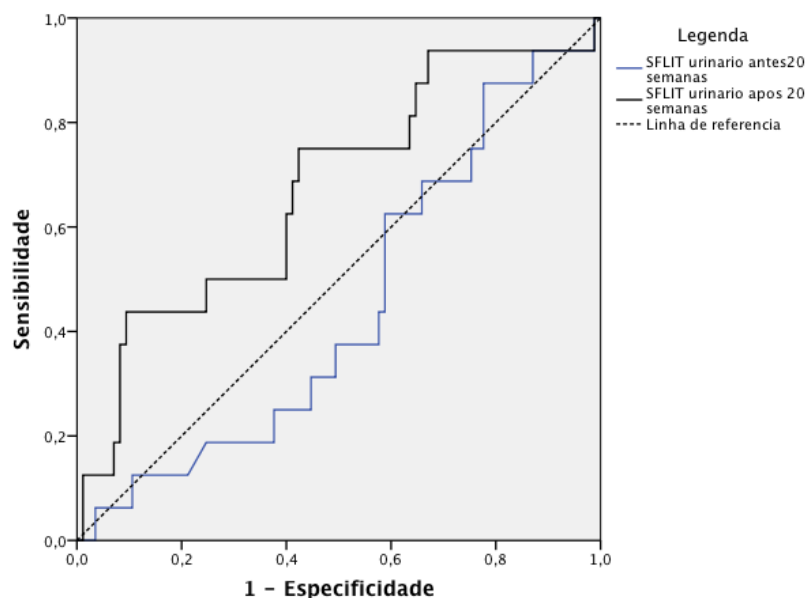


FIGURA 2

Acurácia da concentração urinária de sFlit-1 na predição de preeclâmpsia, em gestantes de risco.

Tomando-se as amostras coletadas antes e após de 20 semanas gestacionais, foi possível observar que não houve diferença na concentração urinária média de PIGF nas gestantes que desenvolveriam preeclâmpsia, em relação às que permaneceriam normotensas no momento do parto (Gráfico 3, $p=0,094$; Gráfico 4, $p=0,566$).

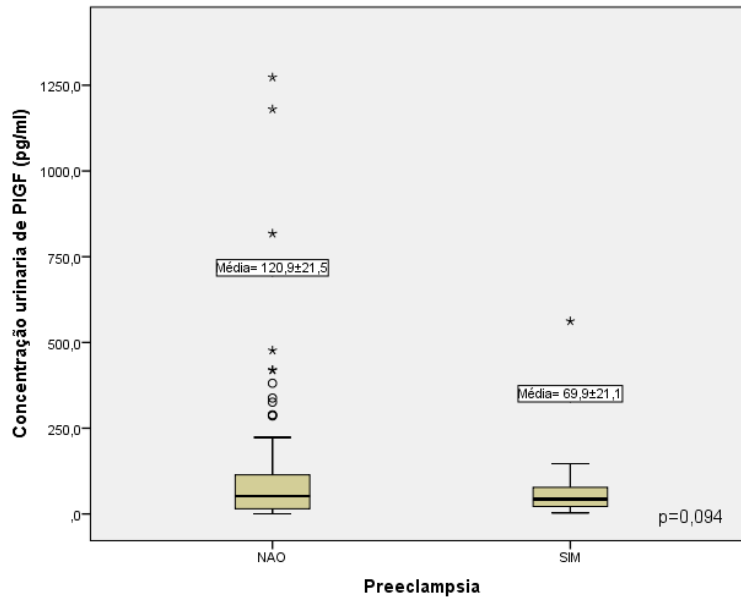


GRÁFICO 3

Concentrações urinárias de PIGF no primeiro trimestre gestacional, comparando-se o grupo que desenvolveu preeclâmpsia com o que permaneceu normotenso no parto

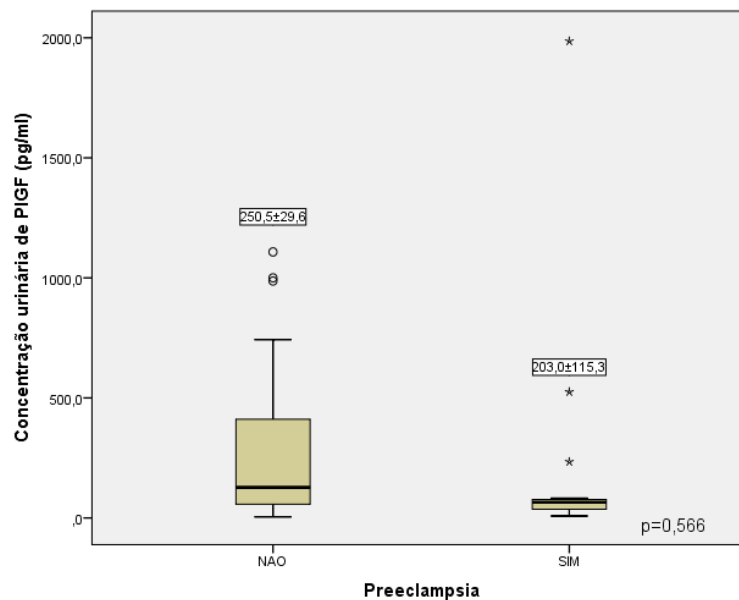


GRÁFICO 4

Concentrações urinárias de PIGF no primeiro trimestre gestacional, comparando-se o grupo que desenvolveu preeclâmpsia com o que permaneceu normotenso no parto

Apesar do potencial clínico do PIGF como preditor de doença não ter sido significativo, o que se confirma pela área sob a curva ROC de 0,50 (IC95%=0,37-0,64; $p=0,956$, Figura 3) para dosagem antes de 20 semanas, situação esta igual ao acaso, a dosagem deste fator de angiogêneses após 20 semanas pode ser de relevância clínica. A área sob a curva foi de 0,68 (IC95%=0,54-0,82; $p=0,020$), ou seja, a acurácia da concentração urinária de PIGF é significativa na predição de estado normotensivo. Valores de PIGF $\geq 8,5\text{pg/mL}$, apresentam uma S: 97,3% e E: 6,2% para predizer um estado normotensivo no parto (Tabela 10).

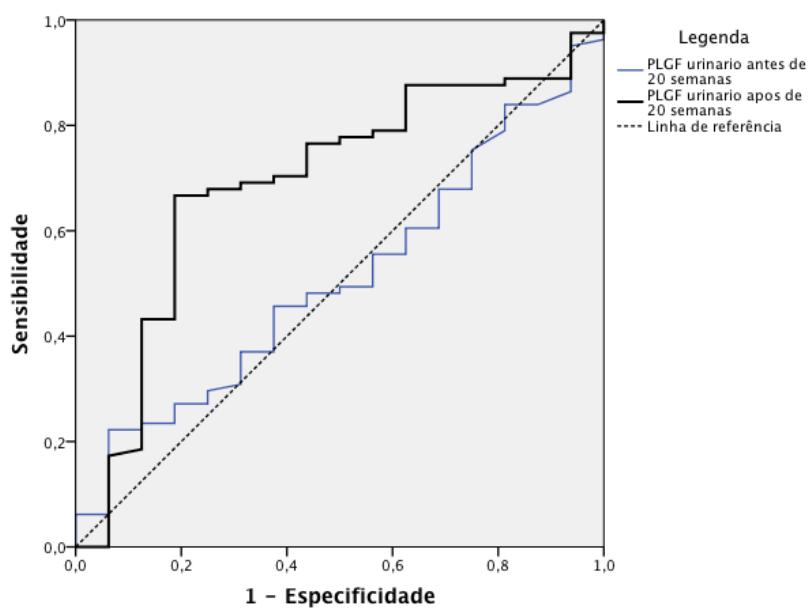


FIGURA 3

Acurácia da concentração urinária de PIGF na predição de gestantes normotensas no parto, em gestantes de risco.

Na dosagem da creatinina urinária nas amostras de gestantes antes de 20 semanas gestacionais, foi possível observar que a concentração urinária média desta substância já se encontrava aumentada nas gestantes que iriam desenvolver preeclâmpsia, em relação às que permaneceriam normotensas no momento do parto (Gráfico 5, $p=0,002$).

Na segunda metade da gestação, esta diferença não foi observada, ou seja, as concentrações urinárias médias de creatinina não se alteraram em relação às gestantes que desenvolveriam preeclâmpsia no parto em relação às demais (Gráfico 6, $p=0,069$).

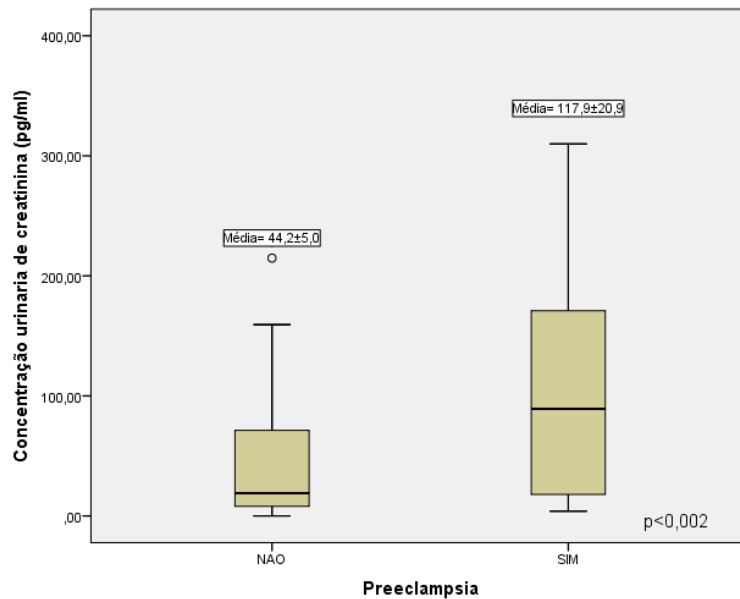


GRÁFICO 5

Concentrações urinárias de creatinina urinária no primeiro trimestre gestacional, comparando-se o grupo que desenvolveu preeclâmpsia com o que permaneceu normotenso no parto

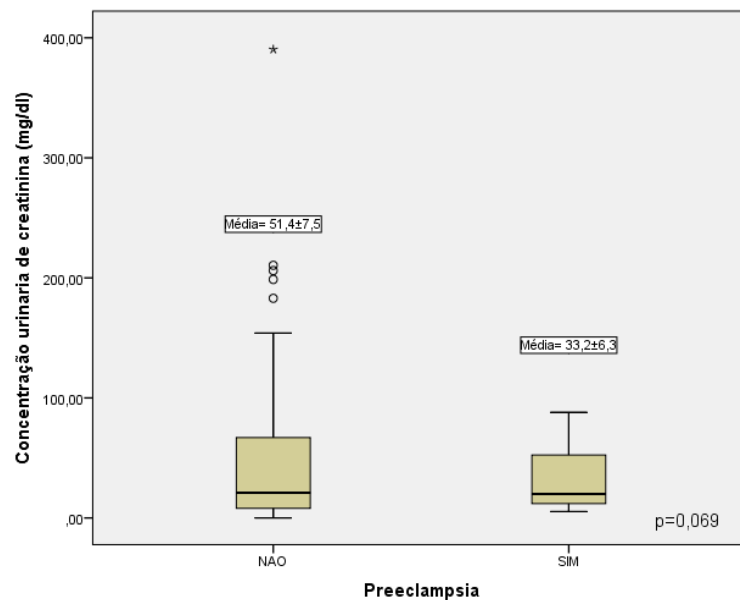


GRÁFICO 6

Concentrações urinárias de creatinina urinária no segundo trimestre gestacional, comparando-se o grupo que desenvolveu preeclâmpsia com o que permaneceu normotenso no parto

A avaliação da área sob a curva ROC foi de 0,69 (IC95%=0,54-0,84; p=0,015) e para dosagem antes de 20 semanas foi 0,50 (IC95%=0,38-0,63; p=0,984). Desta forma, evidenciamos que existe uma maior acurácia da dosagem de creatinina antes de 20 semanas para predizer a preeclâmpsia do que após 20 semanas, sendo esta igual ao acaso (Figura 4). Foi observado que uma concentração urinária creatinina $\geq 5,5$ mg/dL apresenta uma S: 94,1% e E: 11,8% para predição de preeclâmpsia no parto (Tabela 10).

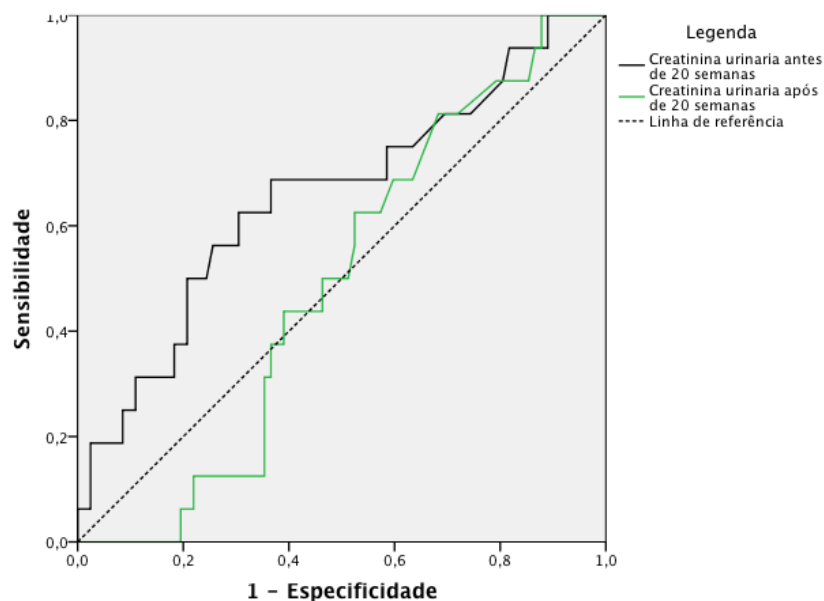


FIGURA 4

Acurácia da concentração urinária de creatinina na predição de preeclâmpsia entre gestantes de risco.

A realização da análise multivariada nos permitiu entender que o melhor conjunto de variáveis para predição da preeclâmpsia são ser primigesta, ter história de preeclâmpsia, ser obesa ($\text{IMC} \geq 30 \text{ Kg/m}^2$ no recrutamento) e a dosagem de creatinina urinária. Conforme a Tabela 11, a variável Preeclâmpsia anterior foi o fator de maior relevância, sendo que a chance de desenvolver a doença aumenta aproximadamente 14 vezes em pacientes com história de preeclâmpsia na gestação anterior. Dentre os outros fatores de risco avaliado, ser primigesta aumenta 5,6 vezes a chance de desenvolver a doença enquanto a obesidade aumenta 4,8 vezes o risco. O único marcador bioquímico que se mostrou como preditor de desenvolvimento de PE foi a creatinina urinária, sendo que a cada aumento da concentração urinária de 1,01 mg/dl aumenta a chance desenvolver a doença.

Por outro lado, a análise multivariada considerou que as variáveis clínico-obstétricas Idade > 35 anos, Raça não branca autodenominada e Primipaternidade, assim como as dosagens dos fatores de angiogênese sFlit-1 antes de 20 semanas e PIGF após de 20 semanas não apresentaram capacidade de predição na avaliação conjunta.

TABELA 10

Avaliação do ponto de corte dos marcadores bioquímicos urinários e a predição destes no desenvolvimento das preeclâmpsia/eclâmpsia na gravidez

Concentrações urinárias Ponto de corte definido Valor médio	N	Normotensas (101)	Preeclâmpsia (26)	p^w	Razão chances (IC 95%)
Creat. urinária antes 20 semanas (ponto de corte: ≥5,5mg/dL)	105	82(86,3%)	23(8%)	0,450	1,8(0,4-8,7)
Creat. urinária antes 20 semanas (valor medio, DP)	120	45,3±49,5	101,5±90,8	<0,001	1,01(1,01-1,02)
sFlit-1 antes de 20semanas (≥48,4pg/dL)	90	70(69,3%)	20(76,9%)	0,448	1,48(0,54-4,04)
sFlit-1 antes de 20semanas (media, DP)	127	226,5±220,0	213,0±191,7	0,082	1,01(1,00=1,01)
PIGF após de 20semanas (≥8,5pg/dL)	90	74(97,4%)	16(94,1%)	0,504	2,31(0,20- 27,08)
PIGF após de 20semanas (media, DP)	93	252,9±258,7	202,9±475,9	0,563	1,0(0,99-1,01)

*Teste de Wald para regressão logística. Os dados são apresentados em termos de número absoluto (n) e frequência relativa (% ou /1000) e pelo seu valor máximo, mínimo e médio. PE: preeclâmpsia; n= número de partos que contém informação sobre a característica avaliada

5.2.3 ANÁLISE MULTIVARIADA DE MARCADORES CLÍNICOS E BIOQUÍMICOS DA PREECLÂMPسيا

TABELA 11

Análise multivariada com fatores de risco clínico e bioquímicos para desenvolvimento da preeclâmpسيا (n=83)

	p*	Razão chances (IC 95%)
Primigesta	0,022	5,60(1,30-24,6)
Pré-eclâmpسيا anterior	0,077	14,14(0,8-279,0)
IMC ≥ 30 no recrutamento (Kg/m²)	0,067	4,80(0,90-25,52)
Creatinina urinária antes 20 semanas (mg/dl)	0,005	1,01(1,01-1,03)

*Teste de Wald para regressão logística. Os dados são apresentados em termos de número absoluto (n) e frequência relativa (% ou /1000) e pelo seu valor máximo, mínimo e médio. PE: preeclâmpسيا; n= número de partos que contém informação sobre a característica avaliada **IMC>30 no recrutamento

6. DISCUSSÃO

6.1 A IMPORTÂNCIA DO ESTUDO NO CONTEXTO DO CUIDADO MATERNO-INFANTIL

A PE, definida como desordem multissistêmica da gestação caracterizada por hipertensão e proteinúria, continua como um desafio para os profissionais de saúde, pesquisadores e gestores do cuidado. Responsável por grande morbidade e mortalidade tanto materna quanto fetal, as limitações existentes no manejo dos sintomas assim, como de suas complicações, torna a procura pela prevenção, pelo diagnóstico precoce e por novas possibilidades terapêuticas, cada vez mais urgente.

Sua detecção precoce permanece como uma meta almejada na área de cuidados maternos e perinatais em desenvolvimento no mundo, objetivando melhorar a saúde do binômio materno-fetal. Os protocolos de assistência internacionais como o NICE 2011 recomendam o rastreamento da patologia já no primeiro trimestre para mulheres com fatores de risco para PE.

A partir da identificação de fatores de risco consistentes, têm-se instituído o tratamento destas pacientes com baixas doses de aspirina e carbonato de cálcio, a fim de se reduzir a chance de seu surgimento (DULEY *et al.*, 2007; NORTH,

2011). Mesmo que ainda sem os resultados almejados na prevenção de sua ocorrência, o fato em si demonstra a importância de estudos randomizados que possibilitem verificar a aplicabilidade de intervenções preventivas em estágios nos quais a doença ainda não causou maiores repercussões negativas na gestação.

A importância do presente estudo neste cenário foi a de verificar a relação entre preditores clínicos e urinários em potencial e as formas clínicas dos distúrbios hipertensivos da gestação, em especial a PE. O estudo deixou claro a importância de marcadores epidemiológicos na predição das complicações hipertensivas da gestação, incluindo e avaliando especificamente a PE.

6.2 AS CARACTERÍSTICAS DA COORTE E A IMPORTÂNCIA DA METODOLOGIA EMPREGADA

Um grande favorecedor das inúmeras abordagens de análise de dados deste estudo foi sem dúvida a oportunidade de se realizar um estudo longitudinal, o primeiro em nosso grupo de pesquisa. Ressaltamos que para um estudo longitudinal desta magnitude, mobilizaram-se alunos de graduação para recrutamento e coleta de dados, professores colaboradores e outros alunos de pós-graduação. As dificuldades de seguimento por até nove meses de cada gestante, que mesmo realizando pré-natal no ambulatório do Hospital das

Clínicas da UFMG por vezes tiveram parto em outros serviços já eram previstas. Apesar disto, a perda de dados foi relativamente pequena taxa de abandono do estudo 1,8% e a perda de dados do parto (4,2%), ambos consideráveis aceitáveis neste tipo de estudo, não havendo prejuízo à análise estatística. Um mérito de uma equipe que trabalhou em colaboração.

O seguimento da coorte concorrente longitudinal nos permitiu acompanhar as gestantes selecionadas, numa sequência temporal conhecida, entre uma exposição, ausência da mesma. Em nosso estudo, a vantagem foi a de que o tempo era supostamente conhecido, uma vez que a gestação tem um período de aproximadamente 280 a 294 dias, levando-se em consideração uma gestação entre 40-42 sem, desta forma a exposição se iniciaria à concepção e o fim do período observacional no parto. Nossa coorte foi alocada ao estudo conforme critérios de inclusão e de exclusão já mencionados na metodologia a fim de observar, ao final deste, o desenvolvimento ou não da patologia.

Outro ponto a favor foi estar inserido no Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas que desde 2002, vem se empenhando no estudo da fisiopatologia da preeclâmpsia com a realização de estudos em parceria com pesquisadores da área básica. Soma-se a isto, a possibilidade de utilização da infraestrutura de um serviço terciário de referência e credibilidade no Estado como foi o nosso cenário, o Hospital das Clínicas da UFMG, onde grande maioria das gestantes acompanhadas teve sua assistência ao parto. Uma vez que as pacientes faziam seu acompanhamento de pré-natal em nosso ambulatório, elas eram

referenciadas a este hospital em casos de necessidade de internação clínica e/ou parto, isto amenizou a perda de seguimento. No entanto, devido à alta complexidade de casos atendidos e superlotação da unidade, algumas pacientes de seguimento da coorte, sem comorbidades, atendidas em trabalho de parto, acabaram sendo transferidas a outras unidades, o que ocasionou a procura destas através de busca ativa, em outras maternidades da região metropolitana.

Portanto foi este modelo de estudo que possibilitou uma análise estatística de maior poder, em relação aos estudos transversais, mesmo que complexa. A análise multivariada é ferramenta que permitiu ajustar múltiplos fatores analisados quanto ao seu envolvimento na predição de PE, atribuindo a eles o real valor. Os preditores bioquímicos urinários investigados, frente aos epidemiológicos, tiveram menor importância, mas podem no futuro se associar a eles na definição de um perfil de mulheres com alto potencial de complicação hipertensiva.

Somou-se a estes fatores de sucesso, uma parceria estabelecida com a Universidade do Porto que resultou na implementação no serviço uma plataforma eletrônica para gerenciamento de bancos de dados de pesquisa, o Medquest (<http://newdbserver.med.up.pt/projext/medquest/verprod/index.php>). Sua utilização possibilitou a organização de um grande número de informações deste estudo longitudinal com fidedignidade, evitando perdas de dados ao longo do percurso. Apesar das dificuldades enfrentadas no sistema de codificação das

variáveis, este banco de dados permitiu utilizar inúmeras variáveis e cruzar dados obtidos entre os diversos grupos de estudos.

Contando com recursos institucionais favoráveis e financiamento FAPEMIG, este estudo foi realizado em tempo hábil, sendo selecionando gestantes do pré-natal em idade tão precoce quanto era possível, uma vez que o grupo de interesse baseava-se na necessidade das pacientes serem captadas antes de 20 semanas de gestação, conforme critério da idade gestacional definido no diagnóstico da PE (NHPGN, 2013). As pacientes foram captadas, com aproximadamente 14 semanas, o caracteriza início precoce no pré-natal, sendo um dos marcadores da boa assistência pré-natal, cujos critérios são início ainda no primeiro trimestre da gestação, no mínimo 6 consultas, registro de pelo menos dois resultados de exames sorológicos ou dos exames da primeira consulta (PHPN, 2000).

A análise estatística serviu para fins de determinação de fatores de risco para desenvolvimento de PE, conforme esperado, nossas pacientes apresentaram a maioria dos fatores de risco para desenvolvimento de doenças hipertensivas mais prevalentes na população geral, sendo que os principais listados na literatura são nuliparidade, extremos de idade materna, cor e a obesidade (TEDESCO *et al.*, 2004).

A escolha do melhor método para realização das dosagens requeridas baseou-se na disponibilidade dos exames já existentes no mercado. A maioria dos

trabalhos apresentavam resultados de dosagens séricas, utilizando a técnica de ELISA. No entanto, conforme definido na literatura (GRILL *et al.* , 2008), a busca de um teste não invasivo, acessível, de baixo custo e eficaz seria o ideal para o diagnóstico da PE, e portanto também deveriam ser levados em consideração em nosso estudo. Esta nossa busca pelo teste preditor passou por problemas relacionados não somente ao processo de escolha destas variáveis pré-definidas.

Foi necessário buscar técnicas que permitissem as dosagens em amostras de urina, e uma vez que já existiam kits para dosagens séricas no mercado, era necessário padronizá-los para uso urinário. Esta padronização demandou tempo e a possibilidade de não ser possível, seria um grande impedimento à realização do estudo, uma vez que grande número de amostras de urinas havia sido colhidas, testadas para proteinúria e armazenadas, aguardavam momento oportuno para as dosagens estabelecidas.

Felizmente, depois de meses de empenho, as dosagens para PIGF e sFlit-1 foi padronizada a partir da adaptação de um kit de ELISA comercial, com o uso de soluções e diluições de anticorpos com titulações específicas, preparadas em nosso laboratório, para detectar as diminutas concentrações destas substâncias existentes na urina das pacientes, se comparada às concentrações séricas, para os quais os kits foram elaborados.

As dosagens de creatinina também foram padronizadas para que a técnica imunoenzimática pudesse ser realizada com o uso de menor volume de solução, uma vez que a reação seria realizada em placa de ELISA, assim como a leitura. As técnicas mostraram reprodutibilidade e esta pode ser testada através de curvas de padronização adequadas.

As amostras de urina, colhidas aleatoriamente, embora inicialmente pensada como uma limitação, foi um fator positivo no estudo por se tratar de uma substância de fácil obtenção e a não necessidade de critério de horário padronizado e sem necessidade de jejum, facilitou, em muito a obtenção do espécime.

6.3 A ANÁLISE DOS MARCADORES CLÍNICOS E BIOQUÍMICOS DA PREECLÂMPSIA

Observou-se que a história pregressa de PE esteve relacionada a um aumento de 13 vezes na chance de desenvolvimento de alguma síndrome hipertensiva, enquanto a obesidade e a Idade acima de 35 anos à chance de aproximadamente 4 vezes, sendo a primiparidade associada a um aumento de 2,75 vezes. Avaliando-se somente a PE como um dos possíveis desfechos das doenças hipertensivas, verificou-se que dentre os fatores de risco conhecidos, o estado de primigesta aumenta 3,4 vezes a chance de desenvolvimento da

doença enquanto a história progressiva de PE aumenta esta chance para 14,9 vezes.

São conhecidos que os fatores de risco mais associados à doença são a HAC, a PE em gestação anterior ou história familiar positiva, a nuliparidade, os extremos de idade reprodutiva, IMC acima de 35. Tais marcadores, ao serem aplicados na detecção da doença, mostram-se responsáveis pela maioria dos casos (POLSANI, 2013).

Além dos preditores clínicos, a investigação científica tem se dedicado à procura de preditores cada vez menos invasivos, sejam eles através de exames de imagem como o estudo Dopplerfluxométrico de artéria uterina, oftálmica ou braquial (BRANDÃO, 2011) ou mesmo empregando-se dosagens de substâncias específicas como as dosagens séricas de fibronectina e de trombomodulina (GRANGER *et al.*, 2002) NO (LOWE, 2000), sEng (GRILL *et al.*, 2009), VEGF e PIGF (POLLIOTTI *et al.*, 2003; LEVINE *et al.*, 2004). Entretanto, nenhum destes exames possibilitou o achado de resultados que possibilitassem a intervenção precoce com resultados positivos em termos de redução de morbidade materna e perinatal, em face aos baixos valores preditivos dos métodos.

Alinhados com esta proposta, entendendo seu potencial de no futuro mudar o curso desta doença, este estudo tentará responder aos anseios dos especialistas

quanto a redução de tamanha morbimortalidade materna e perinatal associadas à hipertensão. A procura por um marcador que possa ser aplicável à população de baixo risco tornaria a detecção da doença possível, mesmo antes do surgimento de suas manifestações e complicações. Assim, o uso da urina pareceu-nos a melhor escolha por se tratar de uma amostra fácil obtenção e que apresenta substâncias provenientes da depuração renal, sendo um reflexo da atividade vários órgãos e também da concentração sérica.

Este estudo longitudinal recrutou coorte de 139 gestantes e ao final do estudo observamos que destas 72,7% (101) permaneceram normotensas, enquanto 27,3% (38) desenvolveram alguma complicação hipertensiva. Tal agrupamento de alto risco acompanhado longitudinalmente nos permitiu avaliar a prevalência de casos que evoluíram com manifestações de distúrbio hipertensivo ao longo da gestação e desta forma classificar cada uma das variações existentes através de critérios preestabelecidos e listados no QUADRO 1.

Evidenciou-se ao final do seguimento uma alta incidência de casos de PE (18,75%), em relação à população geral (5 a 7%) (WHO, 2005), o que provavelmente se deve ao referenciamento de casos de outros níveis de atenção ao nosso pré-natal e aos critérios de inclusão aqui estabelecidos. No entanto, o perfil das pacientes acompanhadas na coorte reflete de alguma forma o universo geral, em que a incidência de PE em mulheres jovens e nulíparas é de aproximadamente 6%, sendo que em mais de 80% dos casos, a doença se manifesta depois de 34 semanas de gestação (HUPPERTZ, 2008). Portanto, sua

validade externa dos achados aqui discutidos, se aplica ao grupo de maior risco marcadamente de primigestas, sem estar focado no grupo de hipertensão prévia, apenas (7) 5,1% da amostra.

As gestantes da coorte, quando no momento do recrutamento, apresentaram uniformidade quanto à idade gestacional (14,4 sem), a maioria composta de mulheres jovens com idade média de 26,3 anos, estatura ($160 \pm 7,1$ cm), o peso ($74,3 \pm 15,9$ kg) e a pressão arterial, ou seja, nos grupos avaliados foram estatisticamente homogêneos em sua caracterização. No entanto, à separação dos grupos, foi verificado que aquelas que desenvolveram PE já apresentavam pressão arterial, tanto sistólica quanto a diastólica, maior no momento do recrutamento. Este fato, não explorado suficientemente nesta análise merece estudos específicos por sua relevância clínica e aplicabilidade no rol de seus marcadores clínicos precoces.

Analisando-se os achados clínicos no momento do parto, um ponto relevante observado foi o ganho médio de peso, refletido no aumento no IMC, de aproximadamente $3,5 \text{ Kg/m}^2$ nas que desenvolveram alguma síndrome hipertensiva, enquanto nas que desenvolveram PE, o aumento médio foi de $1,5 \text{ kg/m}^2$. Este dado vai de encontro ao fato da obesidade ser um dos fatores de risco para desenvolvimento de doenças hipertensivas (AMADEI, 2009).

Em relação aos desfechos obstétricos, a idade gestacional no momento do parto foi menor nas pacientes com PE ($35,6 \pm 5,2$ sem) do que nas normotensas ($37,8$

$\pm 3,4$ sem), como era de se esperar. Reflete a morbidade da doença, uma vez que, muitas das vezes, a gestante com descontrole pressórico ou com alterações na vitalidade fetal, necessita ter sua gestação iatrogenicamente interrompida. Também no grupo de doentes os sintomas de cefaléia, escotomas e epigastralgia foram significativamente maiores do que nas pacientes normotensas ($p=0,001$). Estes sinais são relevantes e utilizados como critério de classificação da PE grave, associado ao aumento da pressão arterial (NICE, 2011).

No tocante a via de parto, em 63,7% foi vaginal e 36,3% cesárea. A taxa excede os 15% preconizado pela OMS (1996) e também os 25% desejáveis pela meta nacional (ANS, 20013), ambas estabelecidas para a população geral de gestantes. Apesar de ser uma doença de grande morbimortalidade, é sabido que a escolha da melhor via de parto para a paciente com síndrome hipertensiva está mais relacionada às condições obstétricas respondendo por indicadores como a idade gestacional, distocias, iteratividade, apresentação pélvica em primíparas e fetais (vitalidade). Assim, como descrito na literatura (WHO, 2004), observamos que, apesar da alta morbidade da doença, a via de parto preferencial da nossa corte foi a vaginal. Além disto, acredita-se que, em razão da boa assistência pré-natal e na internação que as pacientes da coorte tiveram, provavelmente tenha sido evitado interrupção intempestiva através da cesárea, assim como também tenham tido sucesso no processo de indução do parto. É descrito que existe maior risco de complicações maternas quando se realiza cesariana em pacientes com preeclâmpsia grave, destacando-se maior risco de manifestações hemorrágicas, infecção, descontrole pressórico e maior duração da

hospitalização (AMORIM, *et al.*, 2009). Desta forma, a indicação de cesárea estaria reservada à pacientes com cesárea prévia, impossibilitadas de serem indicadas à indução do parto, aquelas com trabalho de parto com distocias ou algum fator que impeça o parto vaginal, sofrimento fetal e apresentações fetais anômalas (XENAKIS, 1997). O ACOG considera que a indução do parto, geralmente PE segura para o concepto, mesmo o de baixo peso com restrição do crescimento fetal e para as gestantes com o quadro de PE, com estabilidade, desta forma, é recomendado o parto vaginal para essa classe de gestantes por causa dos benefícios maternos, destacando-se ainda a alta probabilidade de sucesso com a indução.

Quanto aos Indicadores neonatais acompanhados, observou-se que neonatos de pacientes com PE apresentaram peso menor quando comparado às que permaneceram normotensas ($p=0,008$). Este fator pode ter relação com a idade gestacional de interrupção que menor no grupo que desenvolveu a patologia, sendo a média 35,4 semanas, o que caracteriza a maioria de recém-nascidos prematuros. No entanto, apesar da variabilidade na nota de Apgar ter sido maior no grupo de pacientes normotensas, este indicador não foi influenciado pela doença.

Passaremos agora à discussão dos aspectos realmente inovadores deste estudo, a análise do potencial preditor de marcadores bioquímicos urinários. Ao se avaliar o comportamento das substâncias ao longo da gestação, verificou-se que o sFlit-1 já apresentava valores mais elevados ($p=0,037$) naquelas que

desenvolveriam preeclâmpsia e que esse marcador tende a aumentar na segunda metade da gestação ($p=0,062$). Trata-se de um achado relevante e com potencial de aplicabilidade na prática clínica, por se tratar de uma análise urinária a partir de amostra única aleatória. Pela primeira vez este indicativo foi obtido a partir de dosagem em espécime urinário. O achado é compatível com aquele evidenciado em estudo caso-controle onde foi demonstrado haver o aumento dos níveis séricos de sFlit-1 e sEng 5 a 8 semanas antes do aparecimento dos sinais clínicos da doença em mulheres nulíparas (LEVINE *et al.*, 2004).

Baseando-se na fisiopatologia da PE melhor descrita até o momento, a resposta inflamatória à hipóxia placentária resultante de uma invasão trofoblástica deficiente é capaz de levar a lesão endotelial multissistêmica e contrarregulação de substâncias pro e anti-angiogênicas (PIGF e sFlit-1), na tentativa de remodelação vascular (ASSIS, 2008). Tal fenômeno foi o que nos propomos avaliar indiretamente através das dosagens bioquímicas urinárias dos fatores VEGF e sFlit-1, analisando seu comportamento no decorrer da gestação, na busca das diferenças que pudessem explicar o desenvolvimento ou não da doença.

Estudos prévios têm mostrado a presença de biomarcadores séricos como o fator de crescimento placentário (PIGF), endoglin e o fator solúvel símile tirosine-kinase (sFlit-1), como possíveis preditores da PE, através da presença destes na gestação (LEVINE, 2004; 2006; NICOLAIDES *et al.*, 2011). No entanto a literatura é escassa quanto aos marcadores urinários.

Quanto ao PIGF, análise prospectiva recente procurou fazer uma associação entre os fatores de risco em gestantes entre 14-16 se e 19-21 semanas de gestação, junto aos biomarcadores e ao índice do Doppler na predição precoce da PE comparando-os a presença de apenas os fatores de risco isolados (MEYRS *et al.*, 2013). Sugere que a presença de níveis reduzidos de PIGF antes de 15 semanas de gestação como um possível marcador precoce, sendo de grande benefício a sua pesquisa na presença de fatores de risco para a doença. No entanto, diferentemente do que tem sido verificado, o PIGF mostrou-se em nosso estudo como um bom preditor do estado normotensivo, estando sua concentração urinária aumentada nas pacientes que permaneceram normotensas quando comparadas às que desenvolveram preeclâmpsia ($p < 0,001$).

Um outro achado de relevância foi a presença do aumento da concentração urinária de creatinina verificada já na primeira metade da gestação em pacientes que desenvolveram PE, em relação às que terminariam a gestação normotensas ($p < 0,001$). Sabendo também da conhecida manifestação clínica de hipertensão, proteinúria e da lesão de órgãos-alvo, principalmente o rim, é que também pensamos em avaliar a função renal das gestantes, através da dosagem de creatinina.

A proteinúria de fita foi também motivo de análise no presente estudo. Há algum tempo, o biomarcador utilizado no *screening* de PE era a dosagem da proteinúria

de fita em amostra aleatória. A baixa acurácia deste exame tem desestimulado seu uso precoce no pré-natal para este fim (MORRIS, 2012). Nosso estudo também mostrou não haver diferença significativa na dosagem de proteinúria entre os grupos de normotensas e preeclâmpsia/eclâmpsia tanto ao recrutamento quanto no momento parto.

Até o momento apenas o exame da microalbuminúria e a Dopplerfluxometria de artéria uterina e, mais recentemente, na Europa o teste Alere para dosagens sérica de PIGF e sFlit-1 (GRILL *et al.*, 2009) podem ser considerados de utilidade na prática clínica para triagem de gestantes com suspeição diagnóstica de preeclâmpsia. Mesmo assim, os métodos utilizados trazem limitações, pois alguns permanecem dispendiosos ou examinador dependentes como os métodos de imagem e até mesmo com baixa acurácia, sendo seu uso na triagem questionável, como a proteinúria de fita ou microalbuminúria, o que impede a implantação ou a continuação do uso destes como métodos de rotina no rastreamento de pacientes com risco de desenvolvimento de uma doença tão lesiva.

Uma outra abordagem complementar à estimativa de associação e à do cálculo da razão de chances foi a de se comparar o comportamento evolutivo dos marcadores bioquímicos antes versus após 20 semanas gestacionais e a busca por um limiar de predição (curva ROC). Tal avaliação também tem sido empregada na busca pelo potencial preditivo dos marcadores. Comparou-se o comportamento do marcador no grupo que desenvolveu a doença com o que

permaneceu normotenso até o parto. Isto só é possível quando fatores que aparecem no organismo da gestante próximo aos períodos das ondas de invasão trofoblástica que ocorrem entre 12-20 semanas de gestação podem ser aferidos. Neste momento é que ocorrem as alterações placentárias e a liberação de substâncias responsáveis pelo processo de angiogênese e remodelação do tecido acometido ou tão logo esta acontecesse, a fim de fazer diagnóstico antes da fase de injúria.

Nesta coorte, foi encontrado que de sFlit-1 numa concentração urinária $>48,4$ pg/dl apresenta sensibilidade 94,1% e especificidade 34,6% para predizer a preeclâmpsia, quando dosado em gestantes após 20 semanas, o que foi evidenciado através da análise da curva ROC cuja área de 0,69 indica algum potencial desta dosagem ser utilizada na prática clínica. Por outro lado foi verificado que PIGF numa concentração urinária 8,5 pg/mL apresenta sensibilidade 97,3% e especificidade 6,2% para predizer a preeclâmpsia quando dosado em gestantes após 20 semanas, o que foi evidenciado através da análise da curva ROC cuja área de 0,68 indica potencial desta dosagem ser utilizada na prática clínica.

Já a creatinina numa concentração urinária $\geq 5,5$ pd/dl apresentou sensibilidade 94,1% e especificidade 11,8% para predizer a PE quando dosado em gestantes antes das 20 semanas, o que foi evidenciado através da análise da curva ROC cuja área de 0,69 indica potencial desta dosagem ser utilizada na prática clínica.

Embora a busca por valores de referencia seja de suma importância para a prática clínica, os pontos de corte escolhidos na tabela de balanceamento sensibilidade / especificidade não se mostraram de utilidade prática imediata. Os pontos sugeridos precisam ser futuramente melhor avaliados. No geral possuem baixíssima especificidade e se mostraram com um potencial de acurácia, aferido pela área sob a curva ROC, pequeno.

Finalmente, com o intuito de responder aos anseios sobre a importância de se realizar a união de fatores de risco clínicos e bioquímicos na predição da preeclampsia é que realizamos a análise multivariada. Obtivemos em resposta que o grupo de variáveis com maior acurácia para prever a PE foi ser Primigesta associado aos fatores de História Progressiva de PE, ser obesa no início da gestação e apresentar concentração urinária de creatinina aumentada na primeira metade da gestação.

Os resultados demonstram que apesar de acharmos alterações significativas nas dosagens urinárias dos biomarcadores em mulheres que desenvolveriam a doença comparadas às normotensas, não há ainda uma boa acurácia destes como preditores da doença. Estes resultados corroboram os achados de uma revisão sistemática (KEINROUWELER *et al.*, 2012) que procurou avaliar a capacidade de predição dos fatores pro e anti-angiogênicos (biomarcadores) PLGF, VEGF, sFlit-1 e sENG no aparecimento de PE em gestante antes de 30 semanas. No estudo também se demonstrou baixa acurácia destes biomarcadores séricos isolados, mas com vantagens no conjunto associado a

outros preditores clínicos. A predição da PE através de biomarcadores parece depender da combinação de outras variáveis clínicas à elas associadas (BAUMANNUM, 2008; YU J *et al.*, 2011). Tal achado se repetiu nas dosagens urinárias por nós analisadas.

6.4 LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS

Assim como todo estudo científico, encontramos limitações à sua realização e dificuldades que foram a maioria sendo sanadas no decorrer do mesmo. Não foram empecilhos para prosseguir e ao final, percebemos que ainda persistem dúvidas que vistas como oportunidades desperta em nosso grupo de estudo uma vontade de prosseguir.

Destacamos o baixo poder preditivo dos marcadores bioquímicos urinários em relação aos clínicos. O não achado da concentração urinária de Sflit-1 como indicativo do desenvolvimento da PE, apresentando apenas uma tendência ($p=0,062$), não é equiparável ao achado sérico da presença deste aumento desde o primeiro trimestre. As baixíssimas concentrações urinárias em relação às plasmáticas podem ser uma nova linha de frente a ser investigada. Estudos posteriores são necessários para esclarecer esta tendência apresentada e apresentar possíveis respostas.

A dificuldade de padronização da técnica de dosagem urinária foi um desafio a ser vencido. Mesmo sabendo que as concentrações urinárias poderiam ser muito inferiores às plasmáticas e que poderíamos encontrar uma dificuldade nas análises, a fim de adequar o método de ELISA à detecção destas, realizando várias diluições dos títulos de anticorpos, assim com achar o volume ideal da amostra urinária, resolvemos tentar, ao invés de utilizar outra técnica, por exemplo, de RIE, uma vez que a pretensão era utilizar o kit de ELISA existente no mercado e adequar a técnica para dosagem urinária.

Outro ponto de questionamento levantado se refere à classificação das várias doenças hipertensivas na gravidez. Isto se deve ao fato de que um dos critérios como sinais e sintomas clínicos, presentes na atual classificação de da PE forma grave (ACOG, 2013), podem ter supervalorizado o número de casos, uma vez que se tratam-se de sintomas subjetivos, em que a paciente ao ter relatado cefaleia, epigastralgia ou alterações visuais, sua ficha era preenchida com tais observações e, contudo, foi considerado nos casos em que a pressão arterial também apresentou alteração significativa.

Soma-se a isto, as limitações éticas que impedem a realização de análise de proteinúria de 24h para diagnóstico e avaliação mais precisa da função renal das gestantes que desenvolvem quadro hipertensivo, dosagem não realizada na maioria dos casos. Além disto, não é pratica esta dosagem não é solicitada à pacientes normotensas, sem fator de risco.

Adicionalmente, os achados deste estudo se aplicam às gestantes com fatores de risco e não à população geral. Assim é importante entender que estudos no universo total de gestantes ainda serão importantes para se avaliar a relevância dos fatores de predição aplicáveis a qualquer gravidez.

Por outro lado, os resultados se aplicam diretamente aos profissionais de saúde que cuidam da gestante, no sentido de valorizar a história clínica e exame físico como ponto fundamental na busca pelo perfil de risco para o desenvolvimento da PE. Para o conhecimento científico atual acerca dos grandes desafios desta doença, o estudo confirma a importância de se pensar em múltiplos fatores concorrentes para o desenvolvimento da doença, sendo motivador a busca por parâmetros bioquímicos não invasivos e de baixo custo que sejam de utilidade clínica.

7 CONCLUSÕES

Os marcadores bioquímicos urinários estudados apresentaram comportamentos distintos em relação à capacidade preditiva de Preeclampsia. A elevação na concentração urinária de creatinina na primeira metade da gestação foi o preditor bioquímico mais relevante. O PIGF urinário após 20 semanas mostrou-se potencialmente útil como marcador de estado normotensivo no parto. Enquanto isto, as concentrações urinárias de sFlit-1 apenas mostraram tendência a valores maiores na primeira metade da gestação em mulheres que desenvolveriam preeclâmpsia.

O grupo de fatores epidemiológicos preditores de PE de maior significância clínica foram, em ordem de importância, a história prévia de PE, seguido de primigestação e obesidade no início da gestação. O único fator bioquímico de importância isolada e combinada aos preditores epidemiológicos foi a concentração urinária de creatinina na primeira metade da gestação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOG- American College of Obstetrics and Gynecology: Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. In *Practice bulletin No.: 33*. Washington (DC), American College of Obstetrics and Gynecology; 2002.

ACOG- American College of Obstetrics and Gynecology practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet* 2013; 122:1139–40.

AMADEI JL, MERINO CG. Hipertensão arterial e fatores de risco em gestantes atendidas em unidade básica de saúde. *Rev. Saúde Pesq.* 2010;3(1): 33-9.

AMORIM MM, Noronha CN; Rolland, AS. Tratamento da pré-eclâmpsia baseado em evidências. *Rev.Bras.Ginecol.Obstet.* Sept. 2010; v 32 n.9.

ANS. Taxas de parto cesáreo. Biblioteca virtual do Ministério da Saude. 2013. bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/qualificacao_saude.

ASSIS TR, Viana P F, Rassi S. Estudo dos Principais Fatores de Risco Maternos nas Síndromes Hipertensivas da Gestação. *Arq Bras Cardiol.* 2008. v 91(1), p: 11-16.

BRANDÃO AHF, Evangelista AA, Martins RMF, Leite HV, Cabral ACV. Predição de pré-eclâmpsia em suas formas tardia e precoce pela dilatação fluxomediada da artéria braquial. *Radiol Bras.* 2014 Jul/Ago;v 47(4):p :206–209.

BAUMANN MU, Bersinger NA, Mohaupt MG, Raio L, Gerber S, Surbek DV. First-trimester serum levels of soluble endoglin and soluble fms-like tyrosine kinase-1 as first-trimester markers for late-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* Sep 2008, v 199(3), p: 266.e1-6. doi:10.1016/j.ajog.2008.06.069.

BRANDÃO AHF, Lopes APBM, Salomão CMN, et al. Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial como método de avaliação da função endotelial na pré-eclâmpsia e em gestantes normotensas. *Rev Med Minas Gerais*. 2011;21:9-13.

BRANDÃO AHF et al. Doppler da artéria oftálmica e função endotelial na pré-eclâmpsia. *Radiol Bras*. 2012 Jan/Fev;45(1):20–23.

BROWN MA, LindheimerMD, de SwietM, Van Assche A, Moutquin JM. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy* 2001; v 20: p:IX–XIV.

BUHIMSCHI CS, et al.. A. Urinary angiogenic factors cluster hypertensive disorders and identify women with severe preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. ISSN 0002-9378 2005; v. 192, n3, p. 734-741 Philadelphia.

CARL AB , Edward RA, Tietz. *Textbook of Clinical Chem* 2nd ed, 1994; p: 695-697.

CHAMBERS JC, Fusi L, Malik IS, Haskard DO, Association of maternal endothelial dysfunction with preeclampsia. *JAMA* 2001; 285: 1607–612.//7

CHAN P, Brown M, Simpson JM, Davis G. Proteinuria in pre-eclampsia: how much matters? *BJOG* 2005; v 112, p: 280–85.

CHAIWORAPONGSA T, Romero R, Espinoza EB, et al.. Evidence supporting a role for the vascular endothelial growth factor in the pathophysiology of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2003; v 1541, p: 50-190.

CHAIWORAPONGSA T, Romero R, Korzeniewski SJ. Plasma concentrations of angiogenic/anti-angiogenic factors have prognostic value in women presenting suspected preeclampsia to the obstetrical triage area: a prospective study. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014; 27:132–144.

CHESLEY LC et al. History and epidemiology of pre-eclampsia - eclampsia. *Clin Obstet Gynecol*, Philadelphia, December, 1984; v 27, n 4, p: 801-820.

CHRISTENSEN EI, Carone FA, Rennke HG. Effect of molecular charge on endocytic uptake of ferritin in renal proximal tubule cells. *Lab Invest* 1981; v 44, p: 351–58.

CHRISTENSEN EI, Rennke HG, Carone FA. Renal tubular uptake of protein: effect of molecular charge. *Am J Physiol* 1983; v 244, p: 436–441.

CLARK DE, Smith SK, Licence D, Evans AL, Charnock-Jones DS .Comparison of expression patterns for placenta growth factor, vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF-B and VEGFC in the human placenta throughout gestation. *J Endocrinol* 1998; v 159, p:459-67.

CORRÊA JR, Md; Aguiar, Regina Amélia Lopes Pessoa de; Corrêa, Mário Dias. Fisiopatologia da pré-eclâmpsia: aspectos atuais / Physiopathology of pre-eclampsia: new insights. *Femina*; 37(5):247-253, maio 2009.

CROSS JC. Placental function in development and disease. *Reprod. Fertil. Dev.* 2006 ; v 18, p: 71-76.

CUNNINGHAM FG: Hypertensive disorders of pregnancy. In *Williams' Obstetrics*. New York: McGraw-Hill 2001; p: 567-618.

DULEY L, Henderson-Smart DJ, Meher S, King JF. Antiplatelet agents for preventing preeclampsia and its complications. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; CD004659.

ESPINOZA J, Romero R Nien et al. *Am J Obstet Gynecol* 2007; v 196, p:326.

GAROVIC, VD. Urinary Podocyte Excretion as a Marker for Preeclampsia. *Obstetrical and Gynecological Survey* 2007; v 62:9, p: 560-561.
GYNAECOL .*Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2004 ; v 18, p: 383-96.

GORNALL, A.G, Bardawiill cols. *Biol Chem*, 1977; p: 751.

GONÇALVES, R. et al. Prevalência da Doença Hipertensiva Específica da Gestação em hospital público de São Paulo. *Rev. Bras. Enferm.* v.58, n.1, p.61-4, 2005.

GRANFER JP, Alexander BY. Pathophysiology of Pregnancy induced Hypertension. 2001. *AJH.* V 14, p:178 S-185S.

GRILL S ET AL: "Potential markers of preeclampsia - A review", *Reproductive Biology and Endocrinology, Biomed Central* LTDA, GB, July 2009; v 7, n 70, 14. p: 1-14.

GUYTON. & HALL. Fisiologia humana e Mecanismo das doenças. *Fisiologia Renal.* 2006^{11ª} Ed. Ed Elsevier.

JACQUELYN K Beals. Gene Variants for preeclampsia *Medscape NewsToday* March 22, 2011.

KAPLAN N M.. Hipertensives crises Text Book: In: *Clinical Hypertension 7a* edition Baltimore, 2006.

KAUFMANN P, Black S & Huppertz B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardations and preeclampsia. *Biol Reprod* 2003;v 1, n7 , p: 69.

KAUFMANN I, Rusterholz C ET AL.Can detection of late-onset PE at triage by sFlt-1 or PIGF be improved by the use of additional biomarkers. *Prenat Diagn.* 2012;32:1288–1294.

KENDALL RL, Thomas KA. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; v. 90, p: 10705–10709.

KENDALL RL . Identification of a natural soluble form of the vascular endothelial growth factor receptor, FLT-1, and its heterodimerization with KDR. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996 Sep 13; v 226, n2, p: 324-328.

KEINROUWELER ,SO, Fraser A, Nelson SM, Macdonald-Wallis C, Cherry L, Butler E, Sattar N, Lawlor DA. Associations of pregnancy complications with calculated cardiovascular disease risk and cardiovascular risk factors in middle age: the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. *AU Circulation*. 2012; v 125(11), p:1367.

KIM, SY. Increased sFlt-1 to PlGF Ratio in Women Who Subsequently Develop Preeclampsia", *J Korean Med Sci*, 2007; v 22, p. 873-877 .

KOGA, G, Kaori, et al. .Elevated Serum Soluble Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1 (sVEGFR-1) Levels in Women With Preeclampsia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2003, 88(5), pp. 2348-2351.

LAM C, Lim KH & Karumanchi A. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and predictions of preeclampsia. *Hypertension* 2005; v 46, p: 1077-10857.

LAFAYETTE RA, Druzin M, Sibley R, Derby G, Malik T, Huie P *et al.*. Nature of glomerular dysfunction in pre-eclampsia. *Kidney Int* 1998;v 54, p:1240-1249.

LEVINE, RJ., et al.,. Circulating Angiogenic Factors and the Risk of Preeclampsia. *New England Journal of Medicine*, Feb. 12, 2004;v 350 , n 7 p. 672-683.

LEVINE, R J. Urinary Placental Growth Factor and Risk of Preeclampsia, *JAMA* 2005. v 293, p. 77-85.

LEVINE RJ, Thadhani R, Qian C, Lam C, Lim KH, Yu KF, Blink AL, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, Karumanchi SA Urinary Placental Growth Factor and Risk of Preeclampsia *JAMA*. January 5, 2005; v. 293 N. 1.

LEVINE RJ, Lam C, Qian C, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006; v 355, p: 992-1005.

LINDHEMER, M, Roberts. J., Test to predicts preeclampsia. *Chesley's Hypertensive Disorders in pregnancy*. 2009 ,Third edition. Cap 11, p: 198.

LOWE DT. Nitric Oxide Dysfunction in the pathophysiology of preeclampsia. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry*. 2000; v4, p: 441-458.

MAYNARD, S.E. Yong M J, Merchan J. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*, 2003; v 111, p.649-658.

MAYNARD, S.E. Karumanchi, S. A.. Angiogenic Factors and Preeclampsia *Hypertension and Kidney Disease in Pregnancy*. January 2011; v 31, Issue 1, p: 33-46.

MEADS, CA. Crossen JS, Meher S, Juarez-Garcia A, ter Riet G, Duley L. Methods of prediction and prevention of pre-eclampsia: systematic reviews of accuracy and effectiveness literature with economic modeling. 2008; 12:iii-iv, p 1-270.

MORRIS, RK., Riley, R. D., Doug, M., Deeks, J. J. & Kilby, M. D. Diagnostic accuracy of spot urinary protein and albumin to creatinine ratios for detection of significant proteinuria or adverse pregnancy outcome in patients with suspected pre-eclampsia: systematic review and meta-analysis. *BMJ* . 2012; v 345, p 4342.

MYERS, JE. LC Kenny, LME McCowan, EHY Chan, GA Dekker, NAB Simpson. Angiogenic factors combined with clinical risk factors to predict preterm pre-eclampsia in nulliparous women: a predictive test accuracy study. *Fetal medicina*

BJOG An: *International Journal of Obstetrics and Gynaecology* March 2013; p 1215-23.

NATIONAL HIGH BLOOD PRESSURE EDUCATION WORKING GROUP ON HIGH BLOOD PRESSURE IN PREGNANCY. Report of the national High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. v. 1 *Am J Obstet Gynecol*, St.Louis, July,2000; v 83, n 1: p: 1689-1712.

NICE 2011 NICE. *Hypertension in pregnancy*. 2010 ([HTTP://guidance.nice.org.uk/CG107](http://guidance.nice.org.uk/CG107)) .

NICOLAIDES KH, Akolekar R, Zaragoza E, Poon LC, Pepes S. Maternal serum placental growth factor at 11 + 0 to 13 + 6 weeks of gestation in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008 Nov;32(6):732-9.

NORIS, M Perico,N. Remuzzi,G Mechanisms of Disease: pre-eclampsia. *Nature Clinical Practice Nephrology* 2005; v 1, p: 98-114.

NORTH RA, McCowan LM, Dkker GA, Poston L, Chan EH, Stewart AW, et al. Clinical risk prediction for preeclampsia in nulliparous women: development of model in international prospective cohort. *BMJ* 2011; v 342, d: 1875.

PAPAGEORGHIU A, Yu C & Nicolaides K. The role of uterine artery Doppler in predicting adverse pregnancy outcome. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2004; v 18, p:383-396.

PAPAGEORGHIU A, Yu C, Bindra R, et al. Multicenter screening for preeclampsia and fetal growth restriction by transvaginal uterine artery Doppler at 23 weeks of gestation. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2001; v18, p: 441-449.

POLLIOTTI BM, Fry GA, Saller DN. Second-trimestre maternal serum placental growth factor vascular endothelial growth factor for predicting severe, early-onset preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003; v 1266, p: 74-101.

RAMSAY JE, Stewart F, Greer IA, Sattar N. Microvascular dysfunction: a link between pre-eclampsia and maternal coronary heart disease. *BJOG* 2003; v 110: p: 1029-1931.

REIS, Z.N, Cabral ACV; Barra JS; Leite HV; Demian AA;, dos Reis, AM . Pressão arterial e concentração plasmática do peptídeo atrial natriurético e do peptídeo natriurético tipo B, em gestações complicadas pela pré-eclâmpsia. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* [online]. 2003, v.25, n.6, p. 413-418. ISSN 0100-7203.

ROBERTS JM & Lain KY. Recent insights into the pathogenesis of preeclampsia. Of preeclampsia and eclampsia in the United States. *Placenta* 2002; v 359, p 72-2.

SAFLAS AF, Olson DR. Epidemiology of preeclampsia and eclampsia in the United States. *Am J Obstet Gynecol.* 1990; v 163, p: 460-465.

SANDRIM, VC , PALEI, AC, METZGER, IF. Nitric oxide formation is inversely related to serum levels of antiangiogenic factors soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endogline in preeclampsia. *Hypertension.* Aug 2008; v 52(2), p: 402-407.

SAVITZ, DA; Valery A. Danilack, Stephanie M. Engel, Beth Elston, Heather S. Lipkind. Descriptive Epidemiology of Chronic Hypertension, Gestational Hypertension, and Preeclampsia in New York State. *Matern Child Health J.* 2014 May; 18(4): 829–838.

SECONDI, MV; Flores, Lorena; Fay, Paola; Almanza, Silvina R; Villegas, Silvia; Barone, Gabriela; Van der Velde, Juan. Hiperhomocisteinemia y preeclampsia: una combinación con grave riesgo vascular. Revisión bibliográfica y presentación de caso clínico / Hyperhomocysteinemia and preeclampsia: a combination with

acute vascular risk. : *Rev. Hosp. Matern. Infant.* Ramon Sarda. 2001; v 20(4), p:152-155.

SHARON EM, Jiang-yong M, Jaime M. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 2003; v 111, p:649-658.

SCHIFF E, Friedman SA, Kao L, Sibai BM. The importance of urinary protein excretion during conservative management of severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1996; v 175, p:1313-316.

SIBAI, B.M.; Dekker, DE, G.A.; Kuplermic, M. Pre-eclampsia. *Lancet*, Feb, 2005. London ,v 365, n 26, p 785-99.

SIBAI, B.M. Serum inhibin A and angiogenic factors levels in pregnancies with previous preeclampsia and/or chronic hypertension: are they useful markers for prediction of subsequent preeclampsia? *Am J Obstet Gynecol*, 2008; v 199, p: 268.e1-268.e9.

TEIXEIRA, Patrícia Gonçalves. Fatores de angiogênese na pré-eclâmpsia e a correlação com os níveis da pressão arterial média. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* [online]. 2007; v 29, n 6, p: 329-329. ISSN 0100-7203.

TEIXEIRA, PG, *Vieira, ACV S.P. Andrade, , N.Reis, ZN.* Placental growth factor (PIGF) is a surrogate marker in preeclamptic hypertension. *Hypertens Pregnancy*, 2008; v 27, p. 65–73

TEIXEIRA PG, Reis ZS, Andrade SP, Rezende CA, Lage EM, Velloso EP, Santana CA, Cabral AC. Presymptomatic prediction of preeclampsia with angiogenic factors, in high risk pregnant women. *Hypertens Pregnancy*. 2013;32:312–320.

THANGARATINAM S, Coomarasamy A, Sharp S, O'Mahony F, O'Brien S, Ismail KMK, Khan KS: Tests for predicting complications of pre-eclampsia: A protocol for systematic reviews. *BMC Pregnancy Childbirth* 2008; p: 8-38.

THANGARATINAM S. Estimation of proteinuria as a predictor of complications of pre-eclampsia: a systematic review. *BMC Medicine* 2009, p: 7:10 doi:10.1186/1741-7015-7-10

TSATSARIS V, Goffin F, Munaut C, et al. Over expression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor (sVEGFR-1) in preeclamptic patients: pathophysiological consequences. *J Clin Endocr Metab* 2003.

TEDESCO JJA, Vázquez, ML, Forte, WCN. Quantificação das Populações e Subpopulações de Linfócitos em Gestantes com Pré-eclâmpsia. *RBGO*, 2004, v 26 (8): p: 619-624.

UZAN J., Carbonnel M., Piconne O., Asmar R., Ayoubi J.M. Pre-eclampsia: Pathophysiology, diagnosis, and management. *Vasc. Health Risk Manag.* 2011; v 7, p :467–474.

XENAKIS EM, Piper JM, Field N, Conway D, Langer O. Preeclampsia: is induction of labor more successful? *Obstet Gynecol.* 1997; v 89(4), p: 600-603.

WANG A, Rana S, Karumanchi SA. Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis. *Physiology (Bethesda)* Jun 2009; v 24, p:147-158.

WANG Y, Walsh SW, Kay HH. Placental lipid peroxides and thromboxane are increased and prostacyclin is decreased in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1992 ; v:167, p:946-949.

WILLIAMS OBSTETRICS. Hypertensive disorders in pregnancy. McGraw-Hill, New York, USA; 2004-2005 ; p 265-80.

WIKSTRÖM, AK, Anders MD, Eriksson, UJ. Placental Growth Factor and Soluble FMS-Like Tyrosine Kinase-1 in Early-Onset and Late-Onset Preeclampsia. *Obstetrics & Gynecology*: June 2007; v 109(6) p: 1368-1374.

WOODS, AK. . Warrington, JP, EM, AC Palei, JP, Granger, FT, Spradley. Recent Advances in the Understanding of the Pathophysiology of Preeclampsia. *Hypertension*; 2011, v 57, p: 94-102.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Beyond the numbers: reviewing maternal deaths and complications to make pregnancy safer [document on the Internet]. Geneva:2004<http://whqlibdoc.who.int/publications/2004/9241591838.pdf> 2005.

ZHOU, Y. *et al.* Vascular endothelial growth factor ligands and receptor that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *Am J Pathol*, Jan, 2002; v. 160, n. 4, p. 1405-1423.

ZHOU Y, Bellingard V, Feng KT, McMaster M, Fisher SJ. Human cytotrophoblasts promote endothelial survival and vascular remodeling through secretion of Ang2, PIGF, and VEGF-C. *Dev Biol* 2003 ; v 263: p: 114-25.

ANEXO 1



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

Parecer nº. ETIC 0161.0.203.000-10

Interessado(a): Profa. Zilma Silveira Nogueira
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia
Faculdade de Medicina - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 28 de junho de 2010, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado **"Estudo de marcadores bioquímicos urinários como preditores de pré-eclâmpsia e sua gravidade"** 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 2

Estudo longitudinal de marcadores bioquímicos urinários como Marcadores de Pré-eclâmpsia e sua gravidade



Número do Frasco	1.	
Nome da paciente	2.	
Número do prontuário	3.	
Telefones de contato	Casa	Celular
Idade (anos)	4.	ALTURA (m)
Raça	Branca	Não-branca
Fatores de risco PE	Primigesta Primipaternidade, Hipertensão crônica, PE anterior	Outro:
Data última menstruação	5.	
Data 1º US	6.	IG do 1º US
Gesta	Para	Aborto
Uso de medicamentos	7.	8.
OBSERVAÇÕES	9.	

Os critérios de exclusão são **tabagismo**, diabete, gemelaridade, ausência de fator de risco

PRIMEIRA COLETA	ATÉ 16 SEMANAS – IDENTIFICAR FRASCO COM A LETRA A	
Data da coleta	10.	
Idade Gestacional do dia	11.	
Sintomas urinários do dia	12.	13.
Peso do dia (Kg)	14.	
Pressão arterial do dia	Sistólica	Diastólica
Albuminúria do dia	15.	16.
Uso de medicamentos	17.	18.
OBSERVAÇÕES	19.	

SEGUNDA COLETA	ATÉ 16 A 29 SEMANAS – IDENTIFICAR FRASCO COM A LETRA B	
Data da coleta	20.	
Idade Gestacional do dia	21.	

Sintomas urinários do dia	22.	23.
Peso do dia (Kg)	24.	
Pressão arterial do dia	Sistólica	Diastólica
Albuminúria do dia	25.	26.
Uso de medicamentos	27.	28.
OBSERVAÇÕES	29.	

TERCEIRA COLETA	ACIMA DE 29 SEMANAS – IDENTIFICAR FRASCO COM A LETRA C	
Data da coleta	30.	
Idade Gestacional do dia	31.	
Sintomas urinários do dia	32.	33.
Peso do dia (Kg)	34.	
Pressão arterial do dia	Sistólica	Diastólica
Albuminúria do dia	35.	36.
Uso de medicamentos	37.	38.
OBSERVAÇÕES	39.	

Coleta: 50ml de urina. Fazer proteinúria de fita em 5ml. Congelar 20ml puro. Centrifugar o restantes a 3000 rpm, a 4°C e o sobrenadante será transferido para 6 tubos (2ml cada) e congelados

Dados do Parto

Local de nascimento	40.	
Data de nascimento	41.	
Tipo de parto	42.	
Pressão arterial do dia	Sistólica	Diastólica
Peso do dia (kg)	43.	
Proteinúria (se realizada)	Fita	24h
Sintomas de Pré-eclâmpsia	Cefaléia, escotomas visuais, epigastralgia	Outro:
HELLP Síndrome	44.	
UTI materna	Sim (dias)	Não
Complicações no parto	Sim (qual)	Não

Óbito materno	Sim	Não
Peso do RN	Para	Aborto
IG corrigida (sn)	45.	
Complicações do RN	46.	
Óbito fetal	Óbito neonatal	Dias
OBSERVAÇÕES		

ANEXO 3



ATA DA DEFESA DE TESE DA ALUNA JACQUELINE BRAGA PEREIRA

Realizou-se, no dia 21 de novembro de 2014, às 09:00 horas, sala 029 da Faculdade de Medicina da UFMG, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de tese, intitulada *Avaliação de marcadores clínicos e urinários da preeclampsia me gestações de risco. Uma análise longitudinal.*, apresentada por JACQUELINE BRAGA PEREIRA, número de registro 2011655638, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em SAÚDE DA MULHER, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Zilma Silveira Nogueira Reis - Orientador (Medicina/UFMG), Prof(a). Patricia Gonçalves Teixeira (UFMG), Prof(a). Silvia Passos Andrade (UFMG), Prof(a). Rodrigo Bastos Foscolo (UFMG), Prof(a). Antonio Carlos Vieira Cabral (UFMG).

A Comissão considerou a tese:

- Aprovada
 Reprovada

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

Belo Horizonte, 21 de novembro de 2014.


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


Prof(a). Patricia Gonçalves Teixeira (Doutora)


Prof(a). Silvia Passos Andrade (Doutora)


Prof. Rodrigo Bastos Foscolo (Doutor)


Prof. Antonio Carlos Vieira Cabral (Doutor)


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