



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL E DA
PERFUSÃO UTERINA EM GESTANTES COM FATORES
DE RISCO PARA PRÉ-ECLÂMPSIA**

AUGUSTO HENRIQUES FULGÊNCIO BRANDÃO

Belo Horizonte
2012

AUGUSTO HENRIQUES FULGÊNCIO BRANDÃO

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL E DA
PERFUSÃO UTERINA EM GESTANTES COM FATORES
DE RISCO PARA PRÉ-ECLÂMPZIA**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Saúde da Mulher da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção de título de Doutor.

Área de concentração: Perinatologia.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Vieira Cabral.

Belo Horizonte
Faculdade de Medicina da UFMG
2012

A minha irmã,
por ser minha maior e inseparável companhia
durante os momentos tristes e felizes.

À Fernanda,
pela compreensão, carinho e amor,
indispensáveis para que eu alcançasse o que queria.

Aos meus pais,
por enfrentarem todas as dificuldades possíveis para
garantirem minha felicidade e educação.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Antônio Carlos Vieira Cabral, pela oportunidade, confiança, carisma e genialidade que definiram minha escolha profissional. Por todas as boas coisas que faz para mim e minha família, merecendo nossa eterna gratidão.

Ao Professor Henrique Vítor Leite, pelos conselhos, pela ajuda e por todo o envolvimento, indispensáveis para a realização desta obra. E por sempre mostrar verdadeira e gratuita preocupação com o meu futuro, estando sempre presente para assumir qualquer dificuldade imposta.

À Doutora Ana Paula Brum Miranda Lopes, pela amizade e companheirismo que me acompanham desde o início da minha carreira acadêmica.

Aos Professores Alamanda Kfoury Pereira, Zilma Reis e Gabriel Osanan, pelo apoio e ensinamentos que motivaram e tornaram possível este estudo.

Aos Professores Selmo Geber, Myrian Celani e ao Dr. Rodrigo Hurtado, por propiciarem a expansão de nossa linha de pesquisa em outras áreas do conhecimento.

Ao Doutor William Schneider Krettli, professor, preceptor e amigo, por todas as conversas e desabafos que tornam o cotidiano muito mais interessante.

Aos Professores Mário Dias Corrêa Júnior e Victor Hugo de Melo, assim como toda a equipe do serviço de Pré-natal de Alto Risco do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG), pela ajuda no recrutamento das pacientes e pelo pronto auxílio nos momentos em que meu conhecimento sobre ultrassonografia se mostrou insuficiente.

A todas as minhas colegas residentes, pelas confidências, por me ajudarem e apoiarem sempre, em todos os momentos de nossa exaustiva jornada.

Às Doutoradas Jacqueline Braga, Ludmila Pereira e Cristina Salomão, pela ajuda desde a confecção do projeto de pesquisa até a finalização dos resultados.

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

A todos os familiares, amigos e colegas que acreditaram, apoiaram e respeitaram minha motivação. A participação de todos não será esquecida e será sempre valorizada.

“Devemos estudar o passado e pesquisar o presente para predizermos o futuro”.

Hipócrates (460 a 370 a.C.).

“A linguagem de Deus é a Matemática,
devemos medir tudo que é mensurável ou tornar mensurável tudo que não é”.

Galileu Galilei (1564 a 1642 d.C.).

RESUMO

Introdução: a pré-eclâmpsia (PE) é uma doença específica da gravidez, associada a alto índice de mortalidade perinatal. No intuito de se prever o aparecimento dessa síndrome, testes clínicos que avaliam fenômenos precoces da fisiopatologia da PE seriam de grande valor para a conduta frente a gestantes consideradas de alto risco para o desenvolvimento dessa doença. O uso da dopplerfluxometria de artérias uterinas (IP-AUt) para avaliação da adequada perfusão trofoblástica, associada ao teste de dilatação fluxo-mediada (FMD) da artéria braquial, para análise da função endotelial, poderia representar interessante associação de testes biofísicos para a predição da PE. **Objetivos:** investigar, em pacientes com alto risco de desenvolvimento de PE, o comportamento da perfusão placentária e da função endotelial em dois momentos distintos da gestação entre um grupo de pacientes que efetivamente desenvolveu PE e outro de pacientes que se mantiveram normotensas. Pretende-se, também, avaliar a capacidade preditiva dos dois métodos para a predição da PE, em suas formas precoce (aparecimento antes de 34 semanas de gestação) e tardia (aparecimento depois de 34 semanas de gestação). **Pacientes e métodos:** recrutou-se, do serviço de Pré-Natal de Alto Risco da nossa instituição, o total de 118 pacientes classificadas como de alto risco de desenvolvimento de PE, sendo 91 consideradas para a análise final. Os resultados do IP-AUt e do teste FMD foram obtidos entre 16⁺⁰ e 19⁺⁶ e 24⁺⁰ e 27⁺⁶ semanas de gestação. **Resultados:** entre 16⁺⁰ e 19⁺⁶ e 24⁺⁰ e 27⁺⁶ elevado valor de IP-AUt foi encontrado entre pacientes com subsequente desenvolvimento de PE. Em relação aos resultados da FMD, não se verificou diferença entre os dois grupos estudados entre 16⁺⁰ e 19⁺⁶. Todavia, pacientes com desenvolvimento de PE apresentaram baixos valores - entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶. O uso do IP-AUt em qualquer um dos períodos estudados se mostrou acurado na predição de PE, particularmente em sua forma precoce. O uso da FMD entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ encontrou bons valores de predição para PE, semelhantes entre as formas clínicas de apresentação da síndrome. A associação entre os dois testes mostrou-se superior ao uso isolado de qualquer um para a predição de PE, nas formas precoce e tardia. **Conclusões:** o comprometimento da perfusão placentária é evento precoce na fisiopatologia da PE, podendo ser identificado ainda na primeira metade da gestação, anteriormente ao comprometimento da função endotelial. A associação entre o IP-AUt e a FMD representa uma interessante estratégia de predição de PE, com importantes repercussões clínicas.

Palavras-chave: Pré-eclâmpsia. Dopplerfluxometria. Função endotelial. Perfusão placentária.

ABSTRACT

Introduction: Pre-eclampsia (PE) is a specific disease of human pregnancy, associated with high rate of perinatal mortality. In order to predict the onset of this syndrome, clinical tests which evaluate early phenomena of PE's pathophysiology might be of great value in the care of pregnant women considered at high risk for the developing PE. The use of Uterine artery Dopplerfluxometry (UtA-PI), for the assessment of trophoblastic perfusion, associated with Flow-mediated Dilation (FMD) of brachial artery, in order to evaluate endothelial function, could represent an interesting association of biophysical tests to predict PE. **Objectives:** to assess, in patients with high risk for PE development, the behavior of placental perfusion and endothelial function in two distinct periods of pregnancy, in a group of patients who actually developed PE and in a group of patients who remained normotensive. Also, it is intended to evaluate the predictive capacity of these methods for the prediction of PE, in its early form (appearance before 34 weeks of gestation) and late form (appearance after 34 weeks of gestation). **Patients and methods:** From high risk prenatal service of our institution, a total of 118 patients classified as high risk for PE development were recruited, being 91 considered for final analysis. The results of the UtA-PI and FMD test were obtained between 16 and 19⁺⁰ +6 and 24⁺⁰ and 27⁺⁶ weeks of gestation. **Results:** Between 16⁺⁰ to 19⁺⁶ weeks and 24⁺⁰ to 27⁺⁶ weeks, a higher value of the UtA-PI was found among patients with subsequent development of PE. In relation to the results of FMD, there was no difference between the two studied groups between 16⁺⁰ to 19⁺⁶, however, patients with PE development showed lower values between 24⁺⁰ and 27⁺⁶. The use of UtA-PI in any of the studied periods proved good accuracy rates in predicting PE, particularly in its early form. The use of FMD between 24⁺⁰ and 27⁺⁶ also showed good values of PE prediction, similar between clinical forms of presentation. The association between the two tests proved to be superior if compared to the isolated use of anyone to the prediction tests, in early and late forms. **Conclusions:** Poor placentation is an early event in the pathophysiology of PE, and can be identified in the first half of pregnancy, before the impairment of endothelial function. The association between the UtA-PI and FMD represents an interesting prediction strategy, with important clinical repercussions.

Keywords: Pre-eclampsia. Dopplerfluxometria. Endothelial function. Poor placentation.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C.	Antes de Cristo
AAS	Ácido acetilsalicílico
ACOG	<i>American College of Obstetricians and Gynecologists</i>
ADMA	Dimetil arginina assimétrica
Ang	Angiotensina
ANOVA	Análise de Variância Paramétrica
CEMEFE	Centro de Medicina Fetal
CIUR	Restrição de crescimento intrauterino
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
d.C.	Depois de Cristo
DM	Diabetes <i>mellitus</i>
DMG	Diabetes <i>mellitus</i> gestacional
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dp	Desvio-padrão
FMD	Dilatação fluxo-mediada
GMP	Monofosfato cíclico de guanosina
HAC	Hipertensão arterial crônica
HAS	hipertensão arterial sistêmica
HC	Hospital das Clínicas
HELLP	<i>Hemolyses, elevated liver, low plateletes</i>
HEMOMINAS	Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IC	Intervalo de confiança
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
IMC	Índice de massa corporal
IP	Índice de pulsatilidade
IP-AUt	Índice de pulsatilidade das artérias uterinas
NHBPEPWG	<i>National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy</i>
NO	Óxido nítrico

O ₂ ⁻	Ânios de superóxidos
O ₂	Oxigênio
OH ⁻	Radicais hidroxila
PA	Pressão arterial
PAM	Pressão arterial média
PCR	Proteína C reativa
PE	Pré-eclâmpsia
PLGF	Fator de crescimento placentário
PNAR	Pré-natal de Alto-Risco
PP13	Proteína placentária 13
Rh	<i>Rhesus</i>
ROC	<i>Receiver operating characteristic</i>
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RR	Risco relativo
sENG	Endoglin solúvel
sFlt	<i>Vascular endothelial growth factor receptor</i>
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
SRA	Sistema renina-angiotensina
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TGF-β1	Fator de crescimento transformante beta-1
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TRH	Terapia de reposição hormonal
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figuras

- FIGURA 1 - Esquema da técnica utilizada para obtenção da dilatação fluxo-mediada da artéria braquial..... 45
- FIGURA 2 - Organograma demonstrativo do processo de análise das pacientes, do recrutamento até a análise final do estudo..... 49

Gráficos

- GRÁFICO 1 - Comportamento do índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas de 16 a 20 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia..... 52
- GRÁFICO 2 - Comportamento do índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas de 24 a 28 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia..... 53
- GRÁFICO 3 - Comportamento da dilatação fluxo-mediada (FMD) de 16 a 20 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia..... 53
- GRÁFICO 4 - Comportamento da dilatação fluxo-mediada (FMD) de 24 a 28 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia..... 54
- GRÁFICO 5 - Comportamento do índice de pulsatilidade (IP) médio das artérias uterinas de 16 a 20 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce e tardia..... 59
- GRÁFICO 6 - Comportamento do índice de pulsatilidade (IP) médio das artérias uterinas de 24 a 28 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce e tardia..... 60
- GRÁFICO 7 - Comportamento da dilatação fluxo-mediada (FMD) de 16 a 20 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce e tardia..... 61

GRÁFICO 8 - Comportamento da dilatação fluxo-mediada (FMD) de 24 a 28 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce e tardia.....	62
GRÁFICO 9 - Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas entre 16 ⁺⁰ e 19 ⁺⁶ X pré-eclâmpsia (precoce + tardia).....	66
GRÁFICO 10 - Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas entre 24 ⁺⁰ e 27 ⁺⁶ X pré-eclâmpsia (precoce + tardia).....	67
GRÁFICO 11 - Dilatação fluxo-mediada entre 24 ⁺⁰ e 27 ⁺⁶ X pré-eclâmpsia (precoce + tardia).....	68
GRÁFICO 12 - Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas entre 16 ⁺⁰ e 19 ⁺⁶ X pré-eclâmpsia precoce.....	69
GRÁFICO 13 - Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas entre 24 ⁺⁰ e 27 ⁺⁶ X pré-eclâmpsia precoce.....	70
GRÁFICO 14 - Dilatação fluxo-mediada entre 24 ⁺⁰ e 27 ⁺⁶ X pré-eclâmpsia precoce.....	71
GRÁFICO 15 - Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas entre 16 ⁺⁰ e 19 ⁺⁶ X pré-eclâmpsia tardia.....	72
GRÁFICO 16 - Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas entre 24 ⁺⁰ e 27 ⁺⁶ X pré-eclâmpsia tardia.....	73
GRÁFICO 17 - Dilatação fluxo-mediada entre 24 ⁺⁰ e 27 ⁺⁶ X pré-eclâmpsia tardia.....	74
Quadros	
QUADRO 1 - Fatores de risco para o desenvolvimento de pré-eclâmpsia....	26
QUADRO 2 - Valores para interpretação da área sob a curva ROC na eficiência estatística.....	65

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Fatores de risco de maior impacto que incluíram as gestantes no estudo.....	41
TABELA 2 - Características demográficas das 118 pacientes inicialmente recrutadas para o estudo.....	42
TABELA 3 - Características clínicas e perinatais do grupo de pacientes com desenvolvimento de pré-eclâmpsia e o grupo de pacientes que se mantiveram normotensas.....	50
TABELA 4 - Resultados dos testes e dos valores de pressão arterial média nos grupos de pacientes com desenvolvimento de pré-eclâmpsia e o grupo de pacientes que se mantiveram normotensas.....	51
TABELA 5 - Comparação das variáveis clínicas entre os dois intervalos de tempo estudados.....	54
TABELA 6 - Distribuição dos fatores de risco entre os dois grupos estudados.....	55
TABELA 7 - Características clínicas e perinatais do grupo de pacientes com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce, desenvolvimento de pré-eclâmpsia tardia e o grupo de pacientes que se mantiveram normotensas.....	56
TABELA 8 - Resultados dos testes e dos valores de pressão arterial média nos grupos de pacientes com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce, desenvolvimento de pré-eclâmpsia tardia e no grupo das que se mantiveram normotensas.....	57
TABELA 9 - Comparação das variáveis clínicas entre os dois intervalos de tempo estudados.....	63
TABELA 10 - Distribuição dos fatores de risco entre o grupo de pacientes que se mantiveram normotensas, com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce e tardia.....	64
TABELA 11 - Sensibilidade, especificidade e valores preditivos da Incisura bilateral protodiastólica para predição de pré-eclâmpsia, pré-eclâmpsia precoce e pré-eclâmpsia tardia.....	64

TABELA 12 - Avaliação da predição da pré-eclâmpsia pelos métodos estudados e nos momentos avaliados.....	65
TABELA 13 - Avaliação da predição da pré-eclâmpsia precoce pelos métodos estudados e nos momentos avaliados.....	69
TABELA 14 - Avaliação da predição da pré-eclâmpsia tardia pelos métodos estudados e nos momentos avaliados.....	72
TABELA 15 - Análise da predição da pré-eclâmpsia com a associação dos exames.....	75
TABELA 16 - Análise da predição da pré-eclâmpsia precoce com a associação dos exames.....	75
TABELA 17 - Análise da predição da pré-eclâmpsia tardia com a associação dos exames.....	76

SUMÁRIO¹

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 LITERATURA.....	20
2.1 Pré-eclâmpsia: aspectos gerais.....	20
2.2 Aspectos clínicos da pré-eclâmpsia.....	22
2.3 Classificação da pré-eclâmpsia.....	23
2.4 Fatores de risco.....	25
2.5 Fisiopatologia da pré-eclâmpsia: a invasão trofoblástica deficiente.....	26
2.6 Dopplerfluxometria das artérias uterinas como marcador de perfusão uterina na pré-eclâmpsia.....	29
2.7 Outros métodos de avaliação do processo de implantação trofoblástica.....	30
2.8 Endotélio e pré-eclâmpsia: avaliação endotelial pelo método da dilatação fluxo-mediada.....	32
2.8.1 A disfunção endotelial e o estresse oxidativo.....	32
2.8.2 O endotélio vascular e a produção de óxido nítrico.....	33
2.8.3 A lesão endotelial na pré-eclâmpsia.....	34
2.8.4 O estresse oxidativo.....	35
2.8.5 Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial.....	36
2.8.6 Dilatação fluxo-mediada e pré-eclâmpsia.....	38
2.9 Outros métodos de avaliação da função endotelial.....	39
3 OBJETIVOS.....	40
4 PACIENTES E MÉTODOS.....	41
4.1 Pacientes.....	41
4.2 Aspectos éticos.....	42
4.3 Métodos.....	42

¹ Este trabalho foi revisado de acordo com as novas regras ortográficas aprovadas pelo Acordo Ortográfico assinado entre os países que integram a Comunidade de Países de Língua Portuguesa (CPLP), em vigor no Brasil desde 2009. E foi formatado de acordo com a ABNT NBR 14724 de 17.04.2011.

4.3.1 Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial.....	43
4.3.2 Dopplerfluxometria das artérias uterinas.....	45
4.3.3 Análise estatística.....	46
5 RESULTADOS.....	48
5.1 Comparação entre os achados nos grupos de gestantes normotensas e no grupo de pré-eclâmpsia.....	50
5.2 Comparação entre os grupos de gestantes normotensas e gestantes com pré-eclâmpsia formas precoce e tardia.....	56
5.3 Avaliação do índice de pulsatilidade das artérias uterinas, incisura bilateral protodiastólica e FMD na predição da pré-eclâmpsia.....	64
6 DISCUSSÃO.....	77
6.1 Importância do estudo.....	77
6.2 Avaliação da perfusão uterina e função endotelial em pacientes com desenvolvimento de pré-eclâmpsia.....	78
6.3 Acuidade dos testes na predição de pré-eclâmpsia.....	80
6.4 Perspectivas e sugestões para novos estudos.....	81
6.5 Limitações do estudo.....	81
7 CONCLUSÕES.....	84
REFERÊNCIAS.....	85
APÊNDICES E ANEXO.....	90

1 INTRODUÇÃO

Quando ainda frequentava o ciclo básico do curso de Medicina da UFMG, fui convidado a participar, na qualidade de acadêmico, do Programa de Iniciação Científica do Centro de Medicina Fetal (CEMEFE), em um estudo envolvendo marcadores diagnósticos e prognósticos de uropatias obstrutivas fetais, coordenado pela Professora Alamanda Kfoury Pereira. Na mesma época, participei de estudo desenvolvido no CEMEFE, em conjunto com a Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), visando determinar o grupo *Rhesus* (Rh) fetal em sangue periférico materno.

Permaneci nos projetos até o segundo semestre de 2006, quando iniciei, sob a orientação do Professor Antônio Carlos Vieira Cabral, ensaio clínico feito em conjunto com o Laboratório de Hipertensão Arterial do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG. Foi esse o meu primeiro contato com estudos envolvendo a pré-eclâmpsia (PE).

Nessa ocasião, foi introduzido no serviço um teste de avaliação do endotélio vascular, a dilatação fluxo-mediada (*flow-mediated dilation* – FMD) da artéria braquial, avaliando a disfunção endotelial em gestantes portadoras de PE. Os primeiros resultados surgiram em 2008, momento em que já conhecíamos, a partir de estudos próprios e encontrados na literatura, a variação dos valores de FMD ao longo da gestação. No final desse mesmo ano, o teste de FMD passou a ser aplicado em gestantes portadoras de diabetes *mellitus* gestacional (DMG), condição também associada à lesão de endotélio.

A linha de pesquisa em questão está consolidada no serviço, com diversos artigos publicados em periódicos nacionais e internacionais, além de estudos apresentados em eventos científicos, na sua maioria envolvendo pré-eclâmpsia. As aplicabilidades da FMD em Ginecologia e Obstetrícia já foram abordadas em trabalho publicado pelo nosso grupo (BRANDÃO *et al.*, 2011). Até o presente momento, duas dissertações de mestrado nessa linha de pesquisa já foram

defendidas: a primeira associando a FMD a fatores de angiogênese em pacientes portadoras de PE e a segunda comparando a função endotelial em pacientes portadoras de PE e DMG. Em andamento há estudo que avalia a função endotelial de gestantes obesas, portadoras de colagenoses e mais recentemente em pacientes com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) positivo em uso de terapia antirretroviral durante a gestação. Nova pesquisa foi recentemente proposta com o objetivo de se comparar os valores obtidos de FMD com os valores séricos de dimetil arginina assimétrica (ADMA) em gestantes hipertensas crônicas.

A avaliação endotelial tornou-se um importante alvo de pesquisas clínicas. Uma vez que a disfunção endotelial é o evento inicial de uma série de condições patogênicas, a FMD pode ser vista como um marcador precoce do desenvolvimento de aterosclerose, doença coronariana, insuficiência renal, síndrome coronariana e até mesmo falha ovariana. Por esse motivo, essa linha de pesquisa passou a envolver outros grupos além do grupo de estudos de gestação de alto-risco. Hoje, no Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da UFMG, além dos já citados, a FMD é usada para avaliação de terapias de reposição hormonal. Dois estudos para a construção de teses de doutorado encontram-se em andamento, avaliando a resposta endotelial com o uso de tibolona e estradiol.

Outros grupos do HC-UFMG estão desenvolvendo estudos para avaliar a integridade do endotélio de pacientes portadoras de síndrome metabólica e para acompanhar a resposta de terapias em crianças portadoras de síndrome nefrótica.

De maneira análoga à dopplerfluxometria das artérias uterinas para avaliar a invasão trofoblástica, a FMD passa a ser um interessante método para avaliação da função endotelial. A associação do doppler das artérias uterinas com a FMD avalia dois eventos distintos na fisiopatologia da PE. Combinados, esses exames podem ser úteis para prever o aparecimento dos sintomas clínicos da PE, como já foi demonstrado por Savvidou *et al.* (2003). Entretanto, a utilidade clínica dessa associação com esse objetivo em idades gestacionais inferiores a 20 semanas não foi demonstrada, bem como a análise conjunta da variação desses exames

ao longo da gestação e como deveriam se comportar seus resultados para o sucesso gestacional (SAVVIDOU *et al.*, 2003).

Nesse contexto, desenvolve-se o presente estudo: uma avaliação longitudinal da função endotelial e perfusão placentária realizada por testes biofísicos, com o objetivo de determinar como esses eventos se comportam em gestações complicadas ou não pela PE.

Os próximos itens visam expor de maneira clara: as pesquisas usadas para a revisão bibliográfica, os objetivos do estudo, a metodologia empregada, os resultados encontrados, a discussão e conclusões pertinentes. Até a presente data, cerca de 29.000 trabalhos já foram indexados na base de dados da *Medline* tendo a pré-eclâmpsia como seu tema principal. O estudo da PE é cercado de incertezas e controvérsias e, por isso, torna-se impossível, em uma única dissertação, abordar tudo o que se sabe, teoriza-se ou é investigado sobre essa síndrome.

Atendendo à determinação do Colegiado de Pós-graduação em Saúde da Mulher da UFMG, os resultados parciais do presente estudo foram publicados em dois artigos indexados na base de dados da *Medline/Pubmed*. Os resultados finais ainda serão submetidos à publicação (APÊNDICES A e B).

2 LITERATURA

2.1 Pré-eclâmpsia: aspectos gerais

As desordens hipertensivas da gestação, particularmente a pré-eclâmpsia, persistem como as maiores causas de mortalidade e morbidade materna e perinatal no mundo, sendo também o tema de pesquisa acadêmica mais abordado em Ginecologia e Obstetrícia. O elevado número de estudos sobre a PE se justifica pela sua transcendência, pelo desconhecimento de sua etiologia e pela ausência de métodos de predição ou profilaxia adequados e acessíveis (CABRAL *et al.*, 2009; SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005).

Considerada uma síndrome multifatorial e sistêmica, a PE tem vários pontos de sua fisiopatologia bem estudados e compreendidos. A inter-relação entre eventos patogênicos gera acometimento sistêmico de grande poder mórbido ou mesmo fatal. Alguns autores afirmam que a PE é o desenlace de eventos adaptativos malsucedidos na gestação, com especial destaque para o comprometimento da invasão trofoblástica (NORWITZ; FUNAI, 2008).

Quando a placentação é bem-sucedida, as células do citotrofoblasto invadem a camada íntima das artérias espiraladas uterinas, em substituição às células endoteliais maternas, o que acarreta diminuição na resistência vascular do leito placentário e permite o adequado aporte sanguíneo para o bom desenvolvimento embrionário e fetal. Sabe-se, também, que a inervação simpática desses vasos é destruída, diminuindo ainda mais a resistência ao fluxo de sangue. Todos esses fenômenos já foram bem documentados, inclusive em estudo realizado por Aguiar *et al.* (2001) no CEMEFE do HC-UFMG (AGUIAR *et al.*, 2001; PLASENCIA *et al.*, 2008).

Atualmente, considera-se a PE uma das síndromes relacionadas à disfunção endotelial. Sabe-se que a lesão de endotélio pode ser consequência ou se agravar pela invasão trofoblástica deficiente. A inadequada função endotelial,

expressa pela incapacidade de armazenar ou produzir o óxido nítrico, não somente explica o aumento pressórico da paciente, mas a glomeruloendoteliose renal e a hiperperfusão central, causa direta do edema cerebral, precursor, por sua vez, do quadro convulsivo da eclâmpsia. A função hepática também é comprometida secundariamente ao acometimento do endotélio sinusoidal, culminando na síndrome *Hemolyses, elevated liver, low plateletes* (HELLP) (BRODSZKI *et al.*, 2008). Clinicamente, através da incisura bilateral das artérias uterinas, observada à dopplerfluxometria desse vaso, verifica-se a má-adaptação do leito arterial placentário. A correlação entre o evento fisiopatológico e a chamada “incisura bilateral” foi demonstrada de maneira metodologicamente interessante nos estudos de Aguiar *et al.* (2001), quando biópsias de leito placentário foram analisadas e comparadas com o resultado prévio da dopplerfluxometria (AGUIAR *et al.*, 2001).

Atualmente, usam-se também os valores do índice de pulsatilidade (IP) das artérias uterinas com bons resultados, desde o primeiro trimestre gestacional para a predição de PE, particularmente em sua forma precoce, que acomete gestantes antes de 34 semanas de gestação (PLASENCIA *et al.*, 2008).

Teixeira (2011), em estudo realizado no CEMEFE da UFMG, descreveu o uso da dopplerfluxometria de artérias uterinas associadas à dosagem de fatores pró e antiangiogênicos como possíveis preditores para o desenvolvimento de PE.

A relação entre a disfunção endotelial sistêmica e o processo ineficiente de placentação representa o mecanismo responsável pela perpetuação do processo fisiopatológico da PE. Sabe-se hoje que um estado de estresse oxidativo decorrente da hipóxia placentária gera lesão endotelial em sítios distantes do local da produção. Dessa forma, o endotélio arterial sistêmico torna-se um “alvo” para as espécies reativas de oxigênio (ROS). Quando instituída, a lesão endotelial é responsável pelo aumento nos níveis de tromboxano, citocinas e quimiocinas, além de gerar hipóxia tecidual, inclusive placentária, provocando estresse oxidativo. Tem-se um sistema de perpetuação de eventos patogênicos que só encontra resolução na total retirada da placenta (GRISHAM *et al.*, 1986; HEITZER *et al.*, 1999).

2.2 Aspectos clínicos da pré-eclâmpsia

Somente no ano de 2010, 1.410 artigos foram indexados no *Pubmed/Medline* envolvendo algum aspecto da PE. Mais de 25.000 trabalhos abordando predição, diagnóstico, complicações ou tratamento da PE já foram indexados e, mesmo assim, algumas dúvidas básicas persistem: será uma ou mais de uma doença? Pode-se prever a PE usando-se somente parâmetros predefinidos? Se identificada precocemente, o que pode ser feito? Podem-se reverter os processos fisiopatológicos que já se conhece? (AUDIBERT, 2005; PENNINGTON *et al.*, 2012).

A PE complica 3 a 14% das gestações em todo o mundo, com variações significativas nas populações estudadas. Estima-se que 5 a 8% das gestações nos Estados Unidos são complicadas pela doença. Cabe ressaltar que, desse percentual, 75% dos casos são classificados como leve e 25% como PE grave. Somente 15 a 35% dos casos acontecem com menos de 34 semanas de gestação (AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS - ACOG, 2002; SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005).

À pré-eclâmpsia se atribui a mais alta taxa de mortalidade perinatal, de partos pré-termo e de restrição de crescimento intrauterino (CIUR). Clinicamente, de maneira mais dramática, a PE pode acarretar a eclâmpsia propriamente dita ou a síndrome HELLP. Além dos danos consequentes da doença por si só, outras complicações podem decorrer da PE, como o descolamento prematuro de placenta (CAMPBELL; GRAHAM, 2006).

Apesar da etiologia mal definida, as evidências acumuladas implicam fortemente a placenta como órgão de origem do desbalanço sistêmico, que culmina nas manifestações clínicas da PE (HUPPERTZ, 2008a; ROBERTS; LAIN, 2002).

Em 2000, o *National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy* (NHBPEPWG) apresentou proposta de classificação dos estados hipertensivos da gravidez (NHBPEPWG, 2000):

- Pressão arterial (PA) sistólica ≥ 140 mmHg ou PA diastólica ≥ 90 mmHg após 20 semanas em gestantes com PA prévia normal.
- Proteinúria ≥ 300 mg em 24 horas (ou $\geq 1+$ em amostra de urina).

Cabe ressaltar que a pré-eclâmpsia é uma síndrome caracterizada por incertezas e controvérsias, inclusive em relação à sua definição clínica. Novos protocolos, publicados em 2011 ou 2012, entre eles o Australiano e o da Nova Zelândia, já dispensam a constatação de proteinúria para se fechar o diagnóstico de PE (LOWE *et al.*, 2009).

2.3 Classificação da pré-eclâmpsia

Classicamente, a PE classifica-se, de acordo com a gravidade das manifestações da doença, em leve ou grave. O termo “pré-eclâmpsia moderada” vem sendo abandonado nos estudos e consensos mais recentes (SIBAI; DEKKER; KUPFERMINC, 2005).

A pré-eclâmpsia é considerada grave quando a pressão arterial supera os níveis de 160 x 110 mmHg (126 mmHg de pressão arterial média) em duas ocasiões com intervalo de quatro horas entre as medidas ou a proteinúria é superior a 2 g/24 horas. A PE também é considerada grave quando ocorre envolvimento de múltiplos órgãos, como edema pulmonar, hiper-reflexia, convulsões, oligúria (< 500 mL/24 horas), plaquetopenia ($< 100.000/\mu\text{L}$), aumento dos níveis de creatinina, alterações de enzimas hepáticas com dor epigástrica persistente, dor no quadrante superior do abdome e sintomas graves do sistema nervoso central (alteração de estado mental, cefaleia, borramento visual ou cegueira). O desenvolvimento de oligidrânio e CIUR também indica o desenvolvimento de PE grave (NORWITZ; FUNAI, 2008).

No entanto, estudos mais recentes têm sugerido uma nova classificação baseada na época de início das manifestações clínicas. Propõem-se a classificação em: **precoce** – pacientes que apresentam início da sintomatologia abaixo de 34 semanas; e **tardia** – aquelas nas quais os sintomas iniciam-se após 34 semanas.

Sibai, Dekker e Kupferminc (2005) e Norwitz *et al.* (2005) acreditam que essas duas formas apresentam etiologia diferente, adaptações hemodinâmicas diversas e, por esse motivo, merecem abordagem diversa. Pesquisa feita em nosso serviço, por Reis *et al.* (2010), demonstrou que a manifestação precoce da PE é associada a mais morbidade materno e fetal, incluindo elevados índices de síndrome HELLP em gestantes acometidas antes de 34 semanas de gestação (REIS *et al.*, 2011).

A PE precoce (abaixo de 34) associa-se principalmente à invasão placentária deficiente, com evidências de lesões isquêmicas ao exame da placenta. Desse modo, pacientes com PE precoce apresentam doppler de artérias uterinas anormais, sendo frequente a associação com CIUR e resultados maternos e fetais adversos. Pacientes com idade acima de 35 anos possuem mais riscos de desenvolverem PE precoce (NORWITZ; FUNAI, 2008).

Valensise *et al.* (2008) relataram que a adaptação cardiovascular materna durante a fase latente da doença e no pós-parto sofre influência das desordens placentárias e ocorre de maneira diferente entre as duas formas da doença. Assim, pacientes que evoluem para quadro de pré-eclâmpsia precoce apresentam baixo débito cardíaco e alta resistência vascular sistêmica.

A PE tardia (acima de 34 semanas), por sua vez, está mais associada a fatores constitucionais maternos, com índice de massa corporal aumentado. O índice de resistência das artérias uterinas nessas pacientes é normal ou pouco aumentado. O envolvimento no desenvolvimento fetal é menor e o resultado perinatal é mais favorável. As gestantes que evoluem para essa forma de pré-eclâmpsia exibem débito cardíaco aumentado e resistência vascular sistêmica diminuída (VALENSISE *et al.*, 2008).

2.4 Fatores de risco

A magnitude do risco de desenvolver PE depende de condições específicas e de sua gravidade. Alguns dos riscos mais importantes para o desenvolvimento de PE são descritos a seguir (DUCKITT; HARRINGTON, 2005).

A história de PE em gestações prévias é um fator de risco independente para a recorrência da doença. Revisão sistemática de estudos controlados demonstrou que o risco relativo (RR) de uma gestante com histórico de PE quando comparada a gestantes sem relato de PE prévia é de 7,19 (intervalo de confiança - IC 95% 5,85-8,83). A primiparidade aumenta o risco de desenvolver PE em quase três vezes (RR 2,91; IC 95% 1,28-6,61) (DUCKITT; HARRINGTON, 2005).

Pacientes com história familiar de PE em parente de primeiro grau também tem alto risco de desenvolvimento da doença (RR 2,90; IC 95% 1,70-4,93), o que sugere um mecanismo hereditário em alguns casos (DUCKITT; HARRINGTON, 2005).

O diabetes *mellitus* (DM) pré-gestacional também aumenta o risco de PE (RR 3,56, IC 95% 2,54-4,99), assim como gestações múltiplas também elevam o risco de PE. A hipertensão arterial crônica (HAC) também é um importante e prevalente fator de risco para PE (RR 3,76 IC 95% 2,18-5,12). Para gêmeos, o RR é de 2,93 (IC 95% 2,04-4,21). O risco aumenta com o número de fetos (DUCKITT; HARRINGTON, 2005).

Outros fatores de risco que merecem destaque são a obesidade materna, a hipertensão arterial crônica, doenças renais, colagenoses, a síndrome dos anticorpos antifosfolípidos, a idade materna avançada e o tempo prolongado entre gestações (DUCKITT; HARRINGTON, 2005).

Esses e outros fatores de risco estão expostos no QUADRO 1.

QUADRO 1 – Fatores de risco para o desenvolvimento de pré-eclâmpsia

Fatores relacionados à gestante	Nuliparidade
	Extremos de idade
	História familiar
	Passado de pré-eclâmpsia
	Hipertensão arterial essencial
	Doença renal/tireoideopatias
	Resistência à insulina/diabetes/obesidade
	Trombofilias
	Doença autoimunes
Fatores relacionados ao casal	Primipaternidade
	Esposição limitada ao esperma
	Inseminação artificial heteróloga
	Fertilização <i>in vitro</i> com doação de oócito
	Parceiro com mulheres anteriores com PE
Fatores relacionados à gravidez	Gestação múltipla
	Hidropisia fetal
	Cromossomopatias (trissomia do 13 e triploidias)
	Mola hidatiforme

Fonte: Dekker *et al.* (1995).

2.5 Fisiopatologia da pré-eclâmpsia: a invasão trofoblástica deficiente

Existem evidências de que a placenta é o maior determinante do desenvolvimento de PE, destacando-se a resolução da maioria dos sinais e sintomas característicos da doença depois de 48 horas do parto. Há relatos de PE em gestações molares sem a presença do feto e a PE pode ocorrer no pós-parto caso estejam presentes fragmentos de placenta retidos no útero (SILASI *et al.*, 2010).

O mecanismo mais atual da fisiopatogênese da PE envolve a placentação anormal, que leva à liberação de uma série de marcadores causadores de lesão endotelial e fatores antiangiogênicos. Esses fatores seriam capazes de agir à distância de seu sítio de produção e causar disfunção endotelial sistêmica no organismo materno, diminuindo a perfusão tecidual de vários órgãos (CABRAL *et al.*, 2009).

Durante a placentação normal, as células do citotrofoblasto se ancoram à parede uterina e invadem o interstício da decídua materna. Posteriormente, penetram nas artérias espiraladas, substituindo as artérias endoteliais daqueles vasos e permitindo o aporte necessário de nutrientes e oxigênio ao feto. Para realizar esse fenômeno, as células do citotrofoblasto adquirem verdadeiras características tumorais. Essas células são capazes de aumentar a produção de receptores de fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), favorecendo a angiogênese local e criando ambiente de baixíssima impedância ao fluxo sanguíneo (SILASI *et al.*, 2010). As células trofoblásticas são responsáveis também pela destruição da inervação simpática vascular, propiciando a dilatação arterial (HUPPERTZ, 2008a).

Em estágios precoces da gestação (< 10 semanas), antes das células trofoblásticas estabelecerem a circulação útero-placentária, o embrião vive em ambiente de hipóxia. Sabe-se que a privação de oxigênio (O₂) estimula o desenvolvimento trofoblástico, o que explica a razão pela qual, nessa idade gestacional, a placenta se desenvolve muito mais rapidamente que o concepto. Além do estímulo ao desenvolvimento, a tensão de oxigênio é também responsável pela diferenciação de células trofoblásticas em células endoteliais. Tensão de O₂ relativamente alta favorece essa diferenciação, o que ocorre preferencialmente em leito arterial em relação ao venoso (RODESCH *et al.*, 1992).

Como já comentado, a falha nesse processo, extremamente complexo, gera lesão endotelial circunscrita a esse órgão, em um mecanismo fisiopatológico que se assemelha à aterosclerose sistêmica, não relacionada à PE. Cabe ressaltar que estudos histopatológicos enfatizaram que as artérias espiraladas de pacientes

portadoras de PE possuem diâmetro inferior à metade do diâmetro arterial de gestantes normotensas (BROSENS *et al.*, 1972).

A falha na adaptação fisiológica das artérias espiraladas não é exclusiva da PE, está presente em gestações normotensas que cursam com restrição de crescimento fetal, parto prematuro com membranas intactas e ruptura prematura de membranas (ARIAS, 1997).

Recentemente foi proposto um modelo fisiopatológico de dois estágios. O primeiro evento seria a invasão trofoblástica deficiente, demonstrada antes de 20 semanas pela dopplerfluxometria. O segundo evento da PE seria a resposta materna à placentação inadequada, em que a disfunção endotelial sistêmica, a ser descrita posteriormente, é um denominador comum (ZYGMENT, 2003).

A relação dos mecanismos presentes na gênese da pré-eclâmpsia e do CIUR é particularmente interessante. A baixa perfusão placentária, como evento único e isolado, foi, por muito tempo, considerada causa direta das duas entidades, sem diferenciação de como poderiam ocorrer isoladas ou associadas. Em 2008, novo modelo, proposto por Huppertz, ofereceu explicação satisfatória para esse fato, além de recolocar a baixa perfusão placentária como secundária a um comprometimento de diferenciação intrínseca trofoblástica precoce. O momento exato em que esse comprometimento acontece pode diferenciar as pacientes que, devido à insuficiência placentária, desenvolvem CIUR ou PE (HUPPERTZ, 2008a).

Uma falha na primeira linhagem trofoblástica que se diferencia diretamente da mórula culmina no desenvolvimento associado de PE e CIUR, ao passo que o comprometimento isolado da diferenciação do trofoblasto viloso se restringe ao desenvolvimento de PE em sua forma precoce. Quando falha nas mitoses que geram o trofoblasto extraviloso acontece de maneira isolada, tem-se o aparecimento do CIUR sem associação com desordens hipertensivas. A PE em sua forma tardia é explicada pela diminuição no *clearance* de fragmentos apoptóticos placentários presentes na circulação materna, geralmente

consequentes de condições maternas prévias à gestação, como hipertensão arterial crônica (HAC) e DM (HUPPERTZ, 2008).

Essa nova teoria responde a uma questão interessante: como marcadores séricos em pacientes que desenvolvem PE (ácido desoxirribonucleico - DNA livre circulante) poderiam já estar alterados com seis semanas de gestação? Como um aumento de resistência nas artérias uterinas nessas pacientes ou nas que desenvolvem CIUR poderia ser identificado previamente à segunda onda de invasão trofoblástica? (HUPPERTZ, 2008b).

Mas o mais interessante é o levantamento da hipótese de que a PE tardia e precoce seriam duas entidades distintas que culminariam no mesmo evento fisiopatológico final: um processo inflamatório associado a uma disfunção endotelial materna sistêmica, seja ela por aumento na concentração sistêmica materna de debris placentários (PE precoce) ou na diminuição do *clearance* desses debris por comprometimento sistêmico materno prévio à gestação (PE tardia) (HUPPERTZ, 2008a).

Na ansiedade de detectar fatos e criar teorias, muitas vezes peca-se ao criar generalizações incorretas. Até hoje, nenhuma teoria, nenhum processo fisiopatológico ou nenhum marcador específico se mostrou suficiente para explicar a ocorrência de PE. É mais provável tratar-se de uma síndrome consequente de diversos caminhos fisiopatológicos distintos que, por semelhanças em sua fase sintomática, levam a crer tratar-se de uma só doença.

2.6 Dopplerfluxometria das artérias uterinas como marcador de perfusão uterina na pré-eclâmpsia

O processo fisiológico da invasão trofoblástica pode ser demonstrado pela avaliação doplervelocimétrica, que mostra queda na impedância do fluxo nas artérias uterinas entre seis e 24 semanas, mantendo-se relativamente constante após esse período. Desse modo, pacientes que desenvolvem PE durante a gravidez apresentam IP das artérias uterinas aumentado no primeiro e segundo

trimestres. Baseados nesses fatos, estudos recentes têm sugerido que a avaliação das artérias uterinas ao doppler no primeiro e segundo trimestres é útil no rastreamento de pacientes com risco de desenvolverem pré-eclâmpsia (PILALIS *et al.*, 2007).

Em termos gerais, a maioria dos métodos de predição, ainda em âmbito de pesquisa, apresenta mais sensibilidade para predizer a PE precoce.

Plasencia *et al.* (2008) avaliaram o IP das artérias uterinas em 3.107 pacientes e salientaram que 77% das pacientes que desenvolveram PE precoce e 27% das que desenvolveram PE tardia apresentaram o IP das artérias uterinas acima do percentil 90 entre 11 e 13 semanas de gestação. Os autores realizaram nova avaliação doplervelocimétrica das artérias uterinas entre 21 e 24 semanas nessas pacientes e observaram que ocorreu persistência dos valores do IP das artérias uterinas acima do percentil 90 em 94% dos casos de PE precoce, em 74% dos casos de PE tardia e em 37% dos casos que não desenvolveram PE (PLASENCIA *et al.*, 2008).

A associação entre a história materna e o IP das artérias uterinas entre 11 e 13 semanas é capaz de predizer a PE precoce em 90,9% dos casos, quando fixada à taxa de falso-positivos de 10% (ONWUDIWE *et al.*, 2008).

A incisura protodiastólica nas artérias uterinas após 26 semanas de gestação correlaciona-se com o desenvolvimento de PE e de CIUR. Estudo desenvolvido por Teixeira (2011) avaliando a incisura bilateral associada à alteração nos níveis séricos de fatores de controle angiogênico revelou bons resultados para a predição de PE em pacientes saudáveis e portadoras de hipertensão arterial prévia (TEIXEIRA, 2011).

2.7 Outros métodos de avaliação do processo de implantação trofoblástica

Uma nova era no estudo da implantação placentária iniciou-se com a dosagem de marcadores séricos do processo de angiogênese. Apurou-se redução nos valores

séricos do VEGF em gestantes que desenvolveram PE ou mesmo antes do aparecimento das manifestações clínicas da doença. Com melhores resultados publicados, o fator de crescimento placentário (PLGF) também esteve diminuído em gestantes que desenvolveram a doença, também antecedendo as manifestações clínicas. Por anos levanta-se a possibilidade de que esses fatores pró-angiogênicos possam ser utilizados como marcadores de predição clínica da PE. Todavia, algumas limitações pronunciadas já foram identificadas: a) a diminuição nos valores séricos desses marcadores só é demonstrada algumas semanas antes do desenvolvimento das manifestações clínicas da PE; b) os valores desses marcadores também se encontram diminuídos em pacientes com desenvolvimento isolado de CIUR; c) os estudos são conflitantes em relação ao real valor de predição dos testes (LEVINE *et al.*, 2006; RANA *et al.*, 2007; ROMERO *et al.*, 2008).

Na tentativa de aprimorar o estudo do processo de angiogênese placentária na fisiopatologia da PE, foram pesquisados marcadores de antiangiogênese, sendo o receptor de VEGF do tipo 1 solúvel (*fms-like receptor-1*; sFIT-1) o primeiro deles. Aumento nos valores séricos de sFIT-1, ainda na primeira metade da gestação, foi demonstrado em pacientes que posteriormente desenvolveram PE. A relação fator de crescimento placentário/ *vascular endothelial growth factor receptor* (PLGF/sFit-1) também está alterada em pacientes com subsequente desenvolvimento de PE (THADHANI *et al.*, 2004).

Mais recentemente, o endoglin solúvel (sENG), também fator de antiangiogênese, apareceu como novo marcador em mulheres que desenvolveram PE. Os valores de sENG já estão aumentados entre dois e três meses antes do aparecimento das manifestações clínicas da PE (LEVINE *et al.*, 2006).

Uma ressalva interessante deve ser considerada. As formas solúveis do endoglin e do receptor de VEGF do tipo-1 são naturalmente antiangiogênicas. Contudo, sua forma aderida à membrana celular constitui o maior sistema pró-angiogênico e de produção endotelial já estudado na fisiologia placentária. Eles agem como receptores de membrana para o VEGF e PIGF (receptor VEGF tipo-1) e fator de crescimento transformante beta-1 (TGF- β 1 - endoglin), causando importante

relaxamento na musculatura vascular placentária. Cogita-se hoje que, na tentativa de reverter-se a hipóxia placentária característica da fisiopatologia da PE, a exacerbação na produção desses receptores leve ao aumento dos valores de sua forma solúvel, perpetuando a má-oxigenação placentária (CARINE *et al.*, 2008; ZYGMUNT, 2003).

Outros marcadores bioquímicos de primeiro trimestre gestacional, como a proteína placentária 13 (PP13), proteína placentária associada ao plasma-A (PAPP-A) ou à pentraxina 3 longa, mostraram bons resultados para predição de PE, inclusive com baixa taxa de falso-negativos (PIHL *et al.*, 2008; ZHONG; TUULI; ODIBO, 2010).

O uso da ressonância magnética para cálculo de volume placentário foi recentemente examinado em pacientes portadoras de CIUR e novas perspectivas para a possibilidade de correlação com quadro de PE vêm sendo analisadas (DERWIG, 2011).

2.8 Endotélio e pré-eclâmpsia: avaliação endotelial pelo método da dilatação fluxo-mediada

2.8.1 A disfunção endotelial e o estresse oxidativo

O endotélio vascular é uma extensa estrutura parácrina responsável por grande parte do controle do tônus vascular na árvore arterial do organismo humano. Através de uma série de receptores de membrana, as células endoteliais regulam a produção de óxido nítrico (NO), potente vasodilatador que age relaxando a musculatura lisa da túnica média vascular a partir do monofosfato cíclico de guanosina (GMP) cíclico (CABRAL *et al.*, 2009).

Na gestante, uma série de adaptações fisiológicas promove o relaxamento vascular, sendo seu organismo programado para ser vasodilatado e hiperperfundido. Dessa adaptação depende o sucesso gestacional. Grande parte das modificações no organismo materno está sujeita à função endotelial

satisfatória, com boa produção e armazenamento de NO, o que depende da correta regulação de várias substâncias endógenas, com papel de destaque para o sistema renina-angiotensina (SRA) (RYAN *et al.*, 2010).

O endotélio lesado, por qualquer razão, perde a capacidade de produzir NO e a consequente regulação do tônus arterial. Esse mecanismo fisiológico é descrito como um dos eventos mais precoces na formação das placas ateroscleróticas, da lesão hipertensiva renal e da pré-eclâmpsia (BRODSZKI *et al.*, 2008).

A lesão endotelial torna-se, portanto, um importante alvo de estudos por diversas especialidades médicas e biológicas, justificando expressivos investimentos e a procura por métodos de avaliação da função do endotélio e de fármacos que possam impedir ou reverter a lesão estabelecida (BRANDÃO *et al.*, 2011).

2.8.2 O endotélio vascular e a produção de óxido nítrico

Além de recobrir internamente os vasos sanguíneos, o endotélio é responsável por funções primordiais à homeostase, entre elas a regulação do processo coagulativo e do tônus vascular. Já foram descritos diversos receptores de membrana que participam desses fenômenos, sendo particularmente interessantes os receptores de estrogênios. Foi também demonstrado que a variação nos níveis de estrogênio característica do ciclo menstrual altera significativamente a função endotelial, assim como a terapia de reposição hormonal (TRH) pode melhorar a resposta do endotélio NO-mediada (BRANDÃO *et al.*, 2010a).

O NO é produzido pela enzima NO-sintetase localizada nas células endoteliais usando como precursora a L-arginina. A NO sintetase tem sua função controlada por mediadores circulantes no plasma ou por estímulos locais hipoxemiantes. Qualquer fenômeno que gere hipoperfusão tecidual estimula a produção e liberação de NO pelo endotélio saudável, diminuindo o tônus vascular, com aumento da perfusão sanguínea, na tentativa de reverter a isquemia tecidual (BRODSZKI *et al.*, 2008).

Um dos importantes mecanismos reguladores da NO-sintetase endotelial é o sistema renina-angiotensina. A angiotensina II agindo nos receptores AT1 é capaz de inibir a produção de NO, causando vasoconstricção. Em contrapartida, a angiotensina de 1-7 age no receptor *Mas* estimulando a produção de NO, levando à vasodilatação e à proteção endotelial secundária, uma vez que diminui o fluxo turbulento sanguíneo e a lesão física da parede vascular. Trabalhos mais recentes realçam que na fisiopatologia da PE têm importante papel os autoanticorpos AT1, que agem como agonistas desse receptor. O aumento nos níveis circulantes desses autoanticorpos é tido como um dos elementos que prejudicam a segunda onda de invasão trofoblástica, o que ocorre mesmo antes da lesão endotelial sistêmica (ATHAR *et al.*, 2010).

A dimetil arginina assimétrica (ADMA) é um inibidor endógeno da NO-sintetase. Sua inibição se dá por mecanismo de competição com a L-arginina. Evidências recentes sustentam a teoria de que a ADMA é capaz de causar inibição irreversível dos fatores pró-angiogênicos, particularmente o VEGF. A dimetil arginina dimetilaminohidroxilase é a enzima responsável pela metabolização da ADMA em citrulina e metilamina (BÖGER, 2003; PALM, 2007).

2.8.3 A lesão endotelial na pré-eclâmpsia

A teoria da placentação deficiente explica de maneira satisfatória a lesão endotelial limitada a essa estrutura. O padrão de lesão e remodelamento vascular nas pacientes que desenvolvem PE e CIUR é, inclusive, capaz de explicar, em parte, o alto risco de eventos cardiovasculares em pacientes com história de PE. O ponto ainda não completamente elucidado é como a lesão endotelial limitada aos vasos placentários assume proporções sistêmicas (KAUFFMANN; BLACK; HUPPERTZ, 2003).

Em pacientes normotensas que não desenvolvem PE, o citotrofoblasto invade as artérias espiraladas, assumindo característica de células endoteliais e diminuindo a resistência vascular placentária, fenômeno avaliado pelo doppler de artérias uterinas. Caso esse processo seja deficiente, uma hipóxia tecidual gera aumento

na produção de substâncias antiangiogênicas, particularmente o sFlt-1. O descontrole entre as substâncias angiogênicas e antiangiogênicas é um fator crucial para a propagação da lesão endotelial. Estudos revelam que gestantes que desenvolvem proteinúria mesmo sem o aumento de PA possuem níveis mais elevados de sFlt-1, o que corrobora a hipótese de que a proteinúria isolada possa ser uma forma de PE leve (FOIDART *et al.*, 2010).

Além do sFlt-1, exerce ação antiangiogênica o sENG, mas aparentemente essa substância não tem sua produção decorrente da hipóxia placentária. A dosagem e relação entre os fatores antiangiogênicos (sFlt-1 e sENG) associadas à dosagem dos fatores pró-angiogênicos (VEGF e PlGF) são um promissor método de predição da PE. Trabalhos comprovam que os níveis de sENG alteram-se já no primeiro trimestre da gestação, sendo a quantificação de seu nível plasmático um precoce preditor das manifestações clínicas da PE (FOIDART *et al.*, 2010).

O aumento nos níveis circulantes de substâncias antiangiogênicas associado intimamente à desregulação no SRA compromete a atividade da NO sintetase, causando lesão endotelial. Esse processo, nesse momento, torna-se sistêmico e não mais localizado (BRANDÃO *et al.*, 2011).

2.8.4 O estresse oxidativo

Todos os fatores circulantes maternos, sabidamente aumentados na pré-eclâmpsia, estão ligados, de alguma forma, ao processo inflamatório, à vasoconstrição ou ao estresse oxidativo. Destacam-se o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a angiotensina II (AngII) (CABRAL *et al.*, 2009).

O estresse oxidativo é um desbalanço entre substâncias pró-oxidativas e antioxidantes, resultando em lesão celular, incluindo a disfunção endotelial. As células endoteliais estão em constante contato com substâncias oxidativas circulantes e com as produzidas pelo seu próprio metabolismo. Entre as substâncias pró-oxidativas incluem-se os radicais livres, como ânions de

superóxidos (O_2^-), radicais hidroxila (OH^-) e espécies reativas de oxigênio (ROS) (AGARWAL, 2005).

O estresse oxidativo é ligado de tal forma à lesão endotelial, que se sabe, hoje, que as ROS podem inibir a ação do NO de três maneiras distintas (COOKE, 2004):

- Oxidação do NO circulante.
- Inibição irreversível direta da NO-sintetase.
- Inibição da dimetil arginina dimetilaminohidroxilase, responsável pela depuração da ADMA.

2.8.5 Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial

Um dos métodos mais utilizados na avaliação endotelial foi descrito pela primeira vez por Anderson e Mark, em 1989, denominado de dilatação fluxo-mediada da artéria braquial. O exame baseia-se na promoção de isquemia transitória provocada por garroteamento aplicado no membro superior, desencadeando a liberação de NO pelo endotélio vascular que, quando íntegro, promove vasodilatação compensatória. Dessa forma, o método é capaz de avaliar a integridade da função endotelial a partir da dilatação arterial endotélio-dependente. Esse achado localizado em membro superior espelha a situação de todo o endotélio vascular, podendo inferir-se pela integridade ou pela lesão endotelial de artérias de outras localizações (coronariana, uterina, renais, etc.) (ANDERSON; MARK, 1989; CELERMAJER *et al.*, 1994).

Apesar de mundialmente difundida entre as mais diversas áreas da Medicina, a FMD da artéria braquial possui limitações em sua técnica e na interpretação dos resultados. Não há consenso em diversos pontos quanto à técnica de realização do exame, tais como o local e o tempo de compressão do manguito. Essas etapas levam a alterações no resultado quantitativo do exame, o que torna necessária a descrição minuciosa de todos os passos que foram usados para a reprodutibilidade dos resultados (BOTS *et al.*, 2005).

Desde os trabalhos realizados por Celermajer *et al.* (1994), vários estudos têm sido realizados com o objetivo de entender a fisiopatologia, a análise, a interpretação e a padronização dessa técnica de exame. Bots *et al.* (2005) referiram que os valores encontrados de FMD são mais baixos quando a compressão é feita no antebraço em relação à compressão realizada no braço (proximalmente ao local onde é feita a medida da artéria braquial). Reportaram, também, que tempo de compressão superior a quatro minutos e meio leva a aumento no valor da FMD se comparada com a compressão aplicada por tempo inferior a esse. Porém, não parece haver grande variação no exame aplicando-se pressão superior a 250 mmHg. O tipo de equipamento ultrassonográfico utilizado (modo B ou modo M) parece, também, não influenciar significativamente no resultado do exame (BOTS *et al.*, 2005; CELERMAJER *et al.*, 1994).

Já está bem estabelecido que os resultados da FMD dependem de uma série de fatores e sofrem alterações que podem ser meramente causadas por modificações fisiológicas, particularmente no organismo feminino. Sabe-se, por exemplo, que a gestação, por si só, eleva significativamente os resultados de FMD quando a comparação é feita com mulheres saudáveis não gestantes em período reprodutivo (SIERRA-LAGUADO; GARCIA; LÓPEZ-JARAMILLO, 2006).

Existem também investigações demonstrando o comportamento da FMD ao longo de gestações sem intercorrências clínicas. Na literatura disponível, dois estudos são particularmente interessantes: em 1999, Dorup *et al.* reportaram, em seguimento a 71 gestantes, que a FMD tem aumento progressivo durante a gestação, atingindo maiores resultados no terceiro trimestre. Entretanto, em 2000, Savvidou *et al.*, em acompanhamento a 157 gestações, informaram que os maiores resultados são atingidos no segundo e não no terceiro trimestre como proposto por Dorup *et al.* Os autores atribuem seus resultados à acentuada vasodilatação no terceiro trimestre, o que aumenta o diâmetro basal (pré-compressão) da artéria braquial, diminuindo matematicamente os resultados da FMD no terceiro trimestre. Sua suposição é válida, uma vez que no próprio estudo é demonstrada alta média do diâmetro basal da artéria braquial no terceiro trimestre. Em nosso centro, pesquisa que acompanhou 15 gestantes saudáveis durante a gestação encontrou elevados níveis de FMD no segundo trimestre,

todavia, não foi registrada diferença entre as médias do diâmetro basal da artéria braquial (BRANDÃO *et al.*, 2012a; DORUP *et al.*, 1999; SAVVIDOU *et al.*, 2000).

2.8.6 Dilatação fluxo-mediada e pré-eclâmpsia

Um dos pontos mais estudados da fisiopatologia da PE, atualmente, é a lesão endotelial sistêmica característica da doença. Tem-se conhecimento de que uma implantação placentária anormal gera lesão endotelial nas artérias espiraladas. De alguma forma, essa lesão placentária atinge o endotélio sistemicamente, provavelmente por uma exacerbação do sistema renina-angiotensina. Todo esse processo é acompanhado de uma resposta inflamatória sistêmica generalizada, cursando com elevação nos níveis de TNF e proteína C reativa (PCR) (CABRAL *et al.*, 2009).

Dessa forma, é de se esperar que gestantes portadoras de pré-eclâmpsia possuam valor de FMD mais baixo que as pacientes normotensas. De fato, estudos transversais comprovam essa afirmativa, mostrando significativa diferença nos valores de FMD entre os dois grupos. É interessante ressaltar que os valores diminuídos de FMD não se correlacionam diretamente com marcadores bioquímicos de insuficiência placentária, como o sEng, antiangiogênico ou o PIGF angiogênico (SAVVIDOU *et al.*, 2008).

Savvidou *et al.* (2003) reconheceram que os valores de FMD estão diminuídos previamente ao aumento dos níveis pressóricos em pacientes que desenvolvem pré-eclâmpsia. Uma vez que a lesão endotelial sistêmica é o fator responsável pela hipertensão na fisiopatologia da doença, era de se esperar que acompanhamento longitudinal dos níveis de FMD pudesse servir como preditor de pré-eclâmpsia, o que já foi demonstrado em alguns estudos. Recentemente também foi descoberto que existe correlação entre a incisura bilateral da artéria uterina e baixos valores de FMD em gestantes que desenvolveram PE antes de 34 semanas de gestação, o que corrobora o papel desse exame como capaz de identificar pacientes em risco de desenvolverem pré-eclâmpsia (SAVVIDOU *et al.*, 2003).

Estudo desenvolvido em nosso centro também encontrou valores de FMD significativamente reduzidos em pacientes portadoras de PE quando comparadas às normotensas, em sua forma tardia e precoce (BRANDÃO *et al.*, 2012b).

2.9 Outros métodos de avaliação da função endotelial

Para a avaliação indireta da integridade endotelial, pode-se usar virtualmente qualquer marcador inflamatório, proteína de fase aguda ou fator da cascata de coagulação. A dificuldade inerente desses métodos é a baixa especificidade que se tem quando o objetivo é avaliar exclusivamente uma possível lesão causada ao endotélio vascular. A literatura médica atualmente disponível tende a valorizar a dosagem de ADMA como marcador de lesão endotelial pelos motivos anteriormente expostos, no entanto, vários pontos da metabolização e ação dessa substância padecem de esclarecimentos. Até o presente momento, poucos estudos mais elaborados foram realizados analisando-se os valores séricos de ADMA como possível preditor de doenças endoteliais (DEMIR, 2012; MASOURA, 2012).

A tonometria de aplanção é um método também não invasivo de avaliação da função endotelial que se baseia na avaliação da elasticidade arterial. De maneira análoga à FMD, inferem-se a integridade endotelial e a biodisponibilidade de óxido nítrico, de acordo com a capacidade de dilatação arterial (SAVVIDOU *et al.*, 2011).

A partir de métodos biofísicos ou bioquímicos, a associação da avaliação da função endotelial com a avaliação da perfusão placentária poderia gerar boas estratégias de predição da PE. Essa afirmação é embasada em teoria estabelecida ao se considerar que dois fenômenos distintos, marcadamente presentes no processo fisiopatológico da PE, seriam considerados para a estratégia de predição.

3 OBJETIVOS

- Identificar, em dois momentos distintos da gestação (16⁺⁰ a 19⁺⁶ semanas e 24⁺⁰ a 27⁺⁶ semanas gestacionais), o comportamento da perfusão placentária e da função endotelial, utilizando o doppler das artérias uterinas (IP-AUt) e o teste da dilatação fluxo-mediada (FMD) em gestantes com fatores de risco para desenvolvimento de pré-eclâmpsia.
- Estabelecer a capacidade preditiva do IP-AUt e FMD, isolados ou associados, nos dois momentos estudados da gestação, para a predição da pré-eclâmpsia.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Pacientes

População de 118 pacientes consideradas de alto risco para desenvolvimento de PE foi recrutada no ambulatório de Pré-natal de Alto-Risco (PNAR) do HC-UFMG no período de janeiro de 2011 a janeiro de 2012. Todas as pacientes que se encaixavam nesse perfil foram candidatas a participar do estudo. Não foram incluídas gestantes com idade inferior a 18 anos, em decorrência de questões éticas e conforme sugestão do Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG. As que se negaram a participar do estudo ou se recusaram a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) também foram excluídas, assim como aquelas em que, após o recrutamento, verificou-se ausência real de risco aumentado de desenvolvimento de PE.

Os fatores de risco presentes no grupo incluído na pesquisa estão listados com sua prevalência na TAB. 1.

TABELA 1 - Fatores de risco de maior impacto que incluíram as gestantes no estudo

Fatores de risco	Total n%
Diabetes <i>mellitus</i>	13 (11,0)
História familiar	10 (8,4)
Gemelaridade	3 (2,2)
Hipertensão arterial crônica	23 (19,4)
Idade materna > 35 anos	5 (4,2)
Colagenoses	4 (3,3)
Obesidade	8 (6,7)
História Prévia de Pré-eclâmpsia	30 (25,4)
Primigesta	16 (13,5)
Trombofilias	6 (5,0)
Total	118 (100)

TABELA 2 - Características demográficas das 118 pacientes inicialmente recrutadas para o estudo

Pacientes recrutadas (n=118)	
Idade materna (média \pm dp)	30,12 \pm 4,56
Número de gestações (mediana \pm II)	2,30 \pm 3,10
Primigestas n%	31 (26,2)
IMC pré-gestacional (mediana \pm II)	23,07 \pm 4,04
Raça n%	
Faioderma	43 (36,4)
Leucoderma	41 (34,7)
Melanoderma	34 (28,9)

dp: desvio-padrão; IMC: índice de massa corporal.

4.2 Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais sob o número ETIC 280/08, sendo respeitados todos os princípios de pesquisa em humanos (ANEXO A). Todas as pacientes acompanhadas participaram voluntariamente e assinaram o TCLE aprovado pelo COEP, esclarecendo, entre outros, os objetivos, a segurança, o tipo de exame proposto e a não interferência da aceitação do estudo em relação ao acompanhamento no pré-natal. (APÊNDICE C).

4.3 Métodos

As pacientes foram submetidas à FMD e à dopplerfluxometria de artérias uterinas em dois momentos gestacionais: entre 16⁺⁰ e 19⁺⁶ semanas de gestação e entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ semanas de gestação. Os exames ultrassonográficos foram realizados após a consulta de pré-natal da paciente, sendo a PA aferida na mesma ocasião e usada para análise do presente estudo. Antes do exame ultrassonográfico, um questionário foi preenchido, contendo informações demográficas e dados do exame físico da paciente. Os resultados obtidos a partir do exame não

influenciaram de alguma forma a condução da paciente durante o acompanhamento pré-natal.

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

- Elevações intensas da pressão arterial ($> 160 \times 110$ mmHg);
- proteinúria maciça (mais de 2,0 gramas em 24 horas);
- os níveis pressóricos aumentavam significativamente após período de bom controle;
- a creatinina sérica atingia valores superiores a 1,2 mg/dL.

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

4.3.1 Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial

Para a avaliação da dilatação fluxo-mediada da artéria braquial utilizou-se aparelho de ultrassonografia com doppler, com sonda linear de 7,5 mHz, sendo adotada a metodologia do *Guidelines da American Heart Association (RYAN et al., 2010)*.

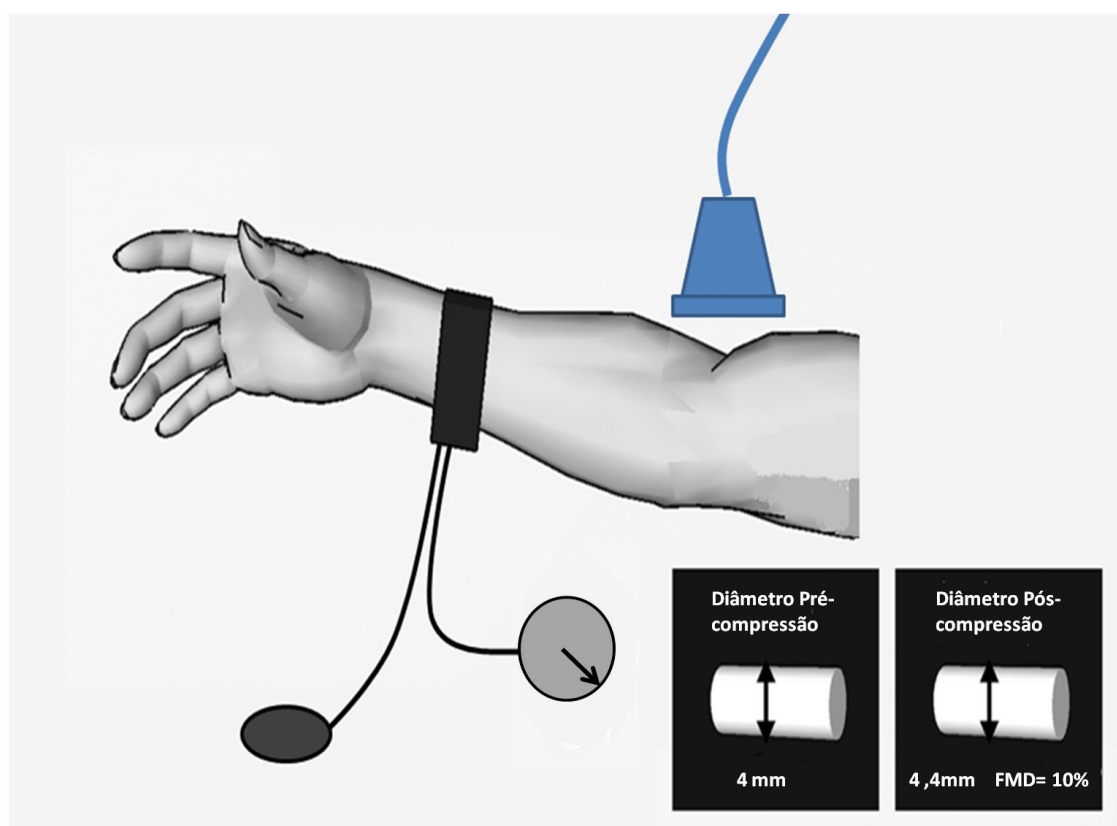
- Paciente em decúbito dorsal;
- aguardar repouso de 15 minutos;
- identificar a artéria braquial medialmente 1 cm acima da fossa antecubital do membro superior dominante;

- obter a melhor imagem longitudinal da artéria braquial (90°) no fim da diástole;
- mensurar a artéria com o calibre na face interna do vaso (camada íntima) em três pontos com distância simétrica de 1,0 centímetro (o valor final considerado é a média das três medidas);
- insuflar o manguito do esfigomanômetro até 250 mmHg posicionado distalmente ao local da medida.
- aguardar 5 minutos com manguito insuflado;
- desinsuflar o manguito vagarosamente;
- aguardar 1 minuto;
- realizar novamente medidas em três pontos da artéria braquial.

O valor da FMD foi obtido com base no cálculo da seguinte fórmula: $FMD (\%) = [(D2 - D1)/D1] \times 100$, onde D1 = diâmetro basal e D2 = diâmetro pós-oclusão. Todos os testes foram realizados pelo mesmo profissional do CEMEFE-HC-UFMG.

Desde 2011, todos os estudos desenvolvidos na Unidade Funcional de Ginecologia e Obstetrícia adotam a técnica como descrito, em detrimento daquela usada anteriormente. Essa modificação visa a adequar os estudos aos “padrões” internacionais e facilitar publicações e a reprodutibilidade dos nossos estudos. A FIG. 1 ilustra de maneira esquemática o método utilizado para a realização do exame.

FIGURA 1 – Esquema da técnica utilizada para obtenção da dilatação fluxo-mediada da artéria braquial



Fonte: do autor.

4.3.2 Dopplerfluxometria das artérias uterinas

A dopplerfluxometria das artérias uterinas foi realizada com a sonda convexa com 3,5 MHz de frequência. A insonação das artérias é feita em seu terço proximal, com angulação máxima de 60°. O cálculo do IP das artérias uterinas é feito a partir de uma onda similar a no mínimo três outras encontradas. A incisura protodiastólica foi observada e considerada entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ semanas de gestação. Esse processo foi repetido com a artéria uterina contralateral para cálculo do IP médio dos dois vasos por média aritmética simples. Todos os exames foram realizados por dois examinadores treinados do CEMEFE-HC-UFMG.

4.3.3 Análise estatística

Para o cálculo da amostra, empregou-se o programa *Stacalc*; Epi info CDC Atlanta, versão 3.5.3 (26 de janeiro de 2011). Considerou-se o erro alfa (α) 5% e o erro beta (β) 20%. Com base em estudo realizado com a FMD em nossa população (alto risco de desenvolvimento de PE – não se aplica à população de risco habitual), que encontrou resultados semelhantes aos da literatura, atribuiu-se valor de 13% de exames com resultados considerados normais em pacientes com PE e RR de 3,67 (razão de incidências de PE entre pacientes com FMD normal e alterada). Considerando encontrar três exames normais para cada exame alterado (não afetados: afetados; 3:1), chegou-se ao cálculo de **80 pacientes** (BRANDÃO *et al.*, 2012a; SALOMÃO, 2012; TAKASE *et al.*, 2003).

Todas as variáveis categóricas foram avaliadas de acordo com a sua frequência absoluta e relativa.

Para as variáveis categóricas, utilizou-se o teste qui-quadrado de Pearson assintótico quando 20% das caselas da tabela de contingência apresentaram valor esperado entre um e cinco e 80% valor esperado acima de cinco. Quando mais de 20% das caselas tinham valor esperado entre um e cinco, utilizou-se o teste qui-quadrado de Pearson exato.

O teste para normalidade de Shapiro-Wilk verificou a normalidade de todas as variáveis numéricas contínuas. Para a análise descritiva de variáveis com distribuição normal, os resultados foram expressos na forma de média \pm desvio-padrão. Quando a variável não preencheu critérios de normalidade de distribuição, os resultados foram expressos na forma de mediana \pm intervalo interquartil (Q3-Q1).

Verificando-se as condições de normalidade das variáveis, os dados foram comparados a partir do teste t de Student. Quando variáveis não obedeciam à distribuição normal, para comparação entre grupos distintos, utilizou-se o teste de Mann-Whitney para comparação de variáveis não paramétricas. Nas comparações das variáveis entre os dois momentos de avaliação (16^{+0} a 19^{+6}

semanas e 24⁺⁰ a 27⁺⁶ semanas de gestação) para cada grupo (PE e não PE, PE precoce e PE tardia), usou-se o teste t pareado para as variáveis quantitativas de distribuição normal e o teste Wilcoxon para as variáveis quantitativas de distribuição não normal.

Quando variáveis quantitativas de três grupos foram comparadas, adotou-se o teste Análise de Variância Paramétrica (ANOVA) para variáveis de distribuição normal e o teste de Kruskal-Wallis para variáveis não paramétricas. Quando comparados dois entre três grupos, empregou-se o teste t de Student para variáveis paramétricas e o teste de Mann-Whitney com o procedimento de correção *pos-hoc* de Dunn.

A variação entre a pressão arterial média (PAM), a FMD e o IP médio das artérias uterinas entre os dois momentos em que os exames foram realizados foi calculada de acordo com a fórmula: $\{(2^{\text{a}}\text{medida}/1^{\text{a}}\text{medida}) - 1\} \times 100\%$.

Na avaliação do IP-AUt e da FMD como métodos de predição da PE nos dois momentos do estudo, usou-se a análise de teste diagnóstico via curva *receiver operating characteristic* (ROC), cálculos de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo. Na construção de curvas envolvendo o IP-AUt considerou-se “mais positivo” o resultado com mais alto valor. Para a construção de curvas envolvendo a FMD, considerou-se “mais positivo” o resultado com valor mais baixo.

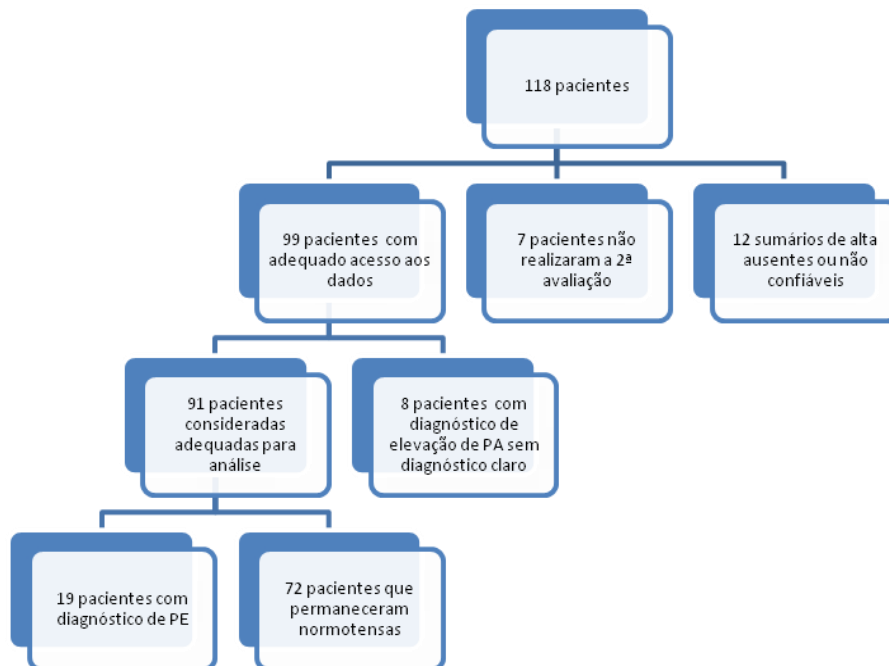
A análise estatística foi feita no *software Statistical Package for Social Sciences version 18* (SPSS; Chicago, IL, EUA).

5 RESULTADOS

Do total de 118 pacientes recrutadas para a realização do estudo e que realizaram os exames ultrassonográficos pela primeira vez, sete (6%) foram excluídas por não retornarem para a realização dos exames pela segunda vez; 12 (10%) foram excluídas, pois se verificou ausência parcial de dados importantes para análise do estudo. Do total de 99 pacientes que realizaram os exames nas duas ocasiões e em que foi possível determinar as condições do parto e admissão na maternidade, oito (7%) receberam diagnóstico de “elevação de PA”, sem proteinúria ou proppedêutica laboratorial que poderiam, com os critérios predefinidos no estudo, preencher o diagnóstico de PE. Tem-se, portanto, o total de 91 gestantes (77% do total recrutado) que foram consideradas para as análises dos resultados.

Do total de 91 gestantes estudadas, 19 (21%) receberam o diagnóstico de PE de acordo com os critérios definidos no estudo; as outras 72 (79%) permaneceram normotensas. Das que tiveram o diagnóstico de PE, oito (9%) tiveram o diagnóstico de PE firmado antes de 34 semanas de gestação (PE precoce) e 11 (12%) foram diagnosticadas após 34 semanas de gestação (PE tardia). Todas as pacientes com diagnóstico de PE foram classificadas como portadoras de PE grave, sendo indicada a interrupção da gestação no momento do diagnóstico. Nos casos com indicação formal, respeitou-se o intervalo entre diagnóstico e interrupção necessário para a indução da maturação pulmonar com glicocorticoides. Todas as pacientes portadoras de HAC inicialmente recrutadas e que foram incluídas na análise final passaram por análise detalhada de documentos de prontuário que permitissem, com segurança, a exclusão do diagnóstico de PE.

FIGURA 2 - Organograma demonstrativo do processo de análise das pacientes, do recrutamento até a análise final do estudo



Na análise do total de pacientes (n=91) em relação à idade gestacional em que os exames foram realizados não houve diferença significativa entre o grupo com posterior desenvolvimento de PE e o grupo de pacientes que se mantiveram normotensas (17,7 semanas X 18,2 semanas; p=0,471 para o primeiro momento de avaliação e 26,2 semanas X 26,1 semanas; p=0,642). Quando comparadas as diferenças de idade gestacional entre os dois momentos de avaliação entre os dois grupos, não se verificou diferença estatisticamente significativa (8,5 semanas X 7,9 semanas; p=0,240).

5.1 Comparação entre os achados nos grupos de gestantes normotensas e no grupo de pré-eclâmpsia

TABELA 3 – Características clínicas e perinatais do grupo de pacientes com desenvolvimento de pré-eclâmpsia e o grupo de pacientes que se mantiveram normotensas

Variável	PE	Normotensas	Valor-p
	n=19	n=72	
Idade materna (média±DP)	30,42±4,36	29,18±6,24	0,418 *
Peso pré-concepcional (mediana±II)	64±20	62±21	0,341**
Número de gestações (mediana+II)	2,00±3,18	2,50±3,55	0,140**
Primigestas (n%)	6 (31,6)	21(29,2)	0,092***
Idade gestacional do parto (mediana±II)	35±6	39±1	<0,001**
Peso fetal (mediana±II)	2620±623	3100±288	<0,001**
IMC (mediana±II)	23,03±7,23	23,10±8,11	0,278**
Raça (n %)			
Faioderma	8 (42,0)	25 (35,0)	0,533***
Leucoderma	5 (26,0)	29 (40,0)	
Melanoderma	6 (32,0)	18 (25,0)	

*Teste T ** Teste Mann Whitney*** Teste Qui-quadrado de Pearson exato.

O grupo de pacientes que desenvolveram PE e o grupo de pacientes que se mantiveram normotensas não diferiram na idade materna, no peso pré-concepcional, na paridade e no IMC médio, além de não apresentarem diferença significativa na distribuição da raça entre os grupos.

TABELA 4 – Resultados dos testes e dos valores de pressão arterial média nos grupos de pacientes com desenvolvimento de pré-eclâmpsia e o grupo de pacientes que se mantiveram normotensas

Variável	PE	Normotensas	Valor-p
	n=19	n=72	
IP artérias uterinas			
16 ⁺⁰ a 19 ⁺⁶ semanas (mediana±II)	1,40±0,32	1,04±0,27	<0,0001**
24 ⁺⁰ a 27 ⁺⁶ semanas (mediana±II)	1,18±0,18	0,84±0,12	<0,0001**
Incisura bilateral			<0,0001***
Presente	12 (63,2)	9(12,5)	
Ausente	7 (36,8)	63(87,5)	
FMD			
16 ⁺⁰ a 19 ⁺⁶ semanas (média±DP)	4,53±3,29	6,01±3,38	0,090*
24 ⁺⁰ a 27 ⁺⁶ semanas (mediana±II)	3,00±3,00	9,00±5,00	<0,0001**
PAM			
16 ⁺⁰ a 19 ⁺⁶ semanas (mediana±II)	93,33±10,00	93,33±10,00	0,677**
24 ⁺⁰ a 27 ⁺⁶ semanas (mediana±II)	93,33±10,00	83,33±10,00	0,082**
Varição PAM (mediana±II)	0±14,6	-7,14±11,01	0,122**
Varição FMD (mediana±II)	0±62	42,9±110	<0,001**
Varição IP-AU médio (mediana±II)	-13,8±16,0	-18,3±18,8	0,551**

*Teste T ** Teste Mann Whitney*** Teste Qui-quadrado de Pearson exato.

Em relação à dopplerfluxometria de artérias uterinas, puderam-se observar valores mais elevados do IP-AUt no grupo com subsequente desenvolvimento de PE, nos dois intervalos estudados. A incisura bilateral protodiastólica também foi detectada mais frequentemente no grupo que desenvolveu PE. Quanto aos valores de FMD, entre 16⁺⁰ e 19⁺⁶ semanas, não houve diferença significativa na média ou mediana de resultado entre os dois grupos estudados. Não houve também diferença entre a PAM aferida entre os dois grupos, tanto entre 16⁺⁰ e 19⁺⁶ semanas como entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ semanas.

Não se constatou diferença na variação dos valores de PAM e IP-AUt entre os dois grupos, mas registrou-se significativa diferença na variação dos valores de FMD.

Nos GRÁF. 1 a 4 a seguir apresenta-se o comportamento dos exames realizados em ambos os grupos de gestantes (normotensas e pré-eclâmpticas).

GRÁFICO 1 - Comportamento do índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas de 16 a 20 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia

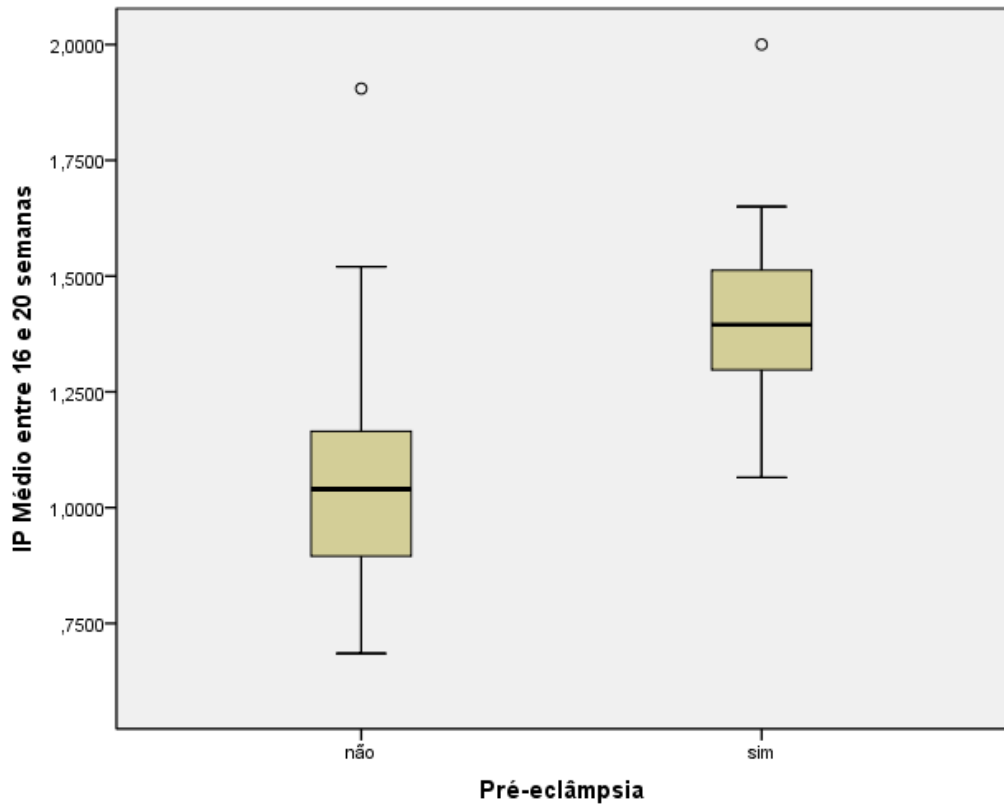


GRÁFICO 2 - Comportamento do índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas de 24 a 28 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia

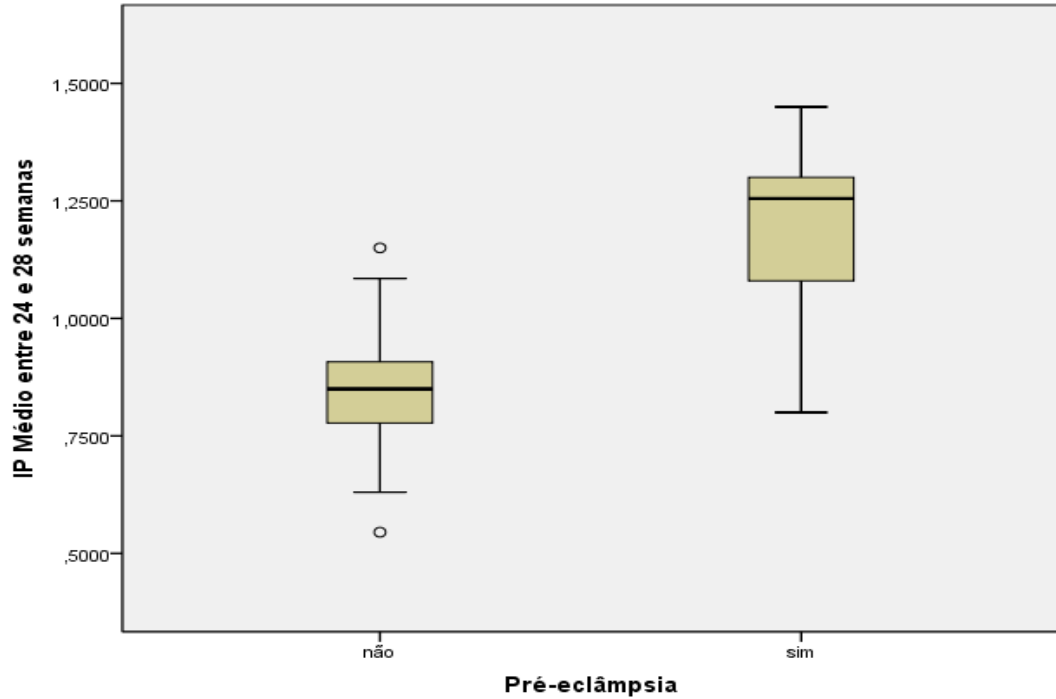


GRÁFICO 3 - Comportamento da dilatação fluxo-mediada (FMD) de 16 a 20 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia

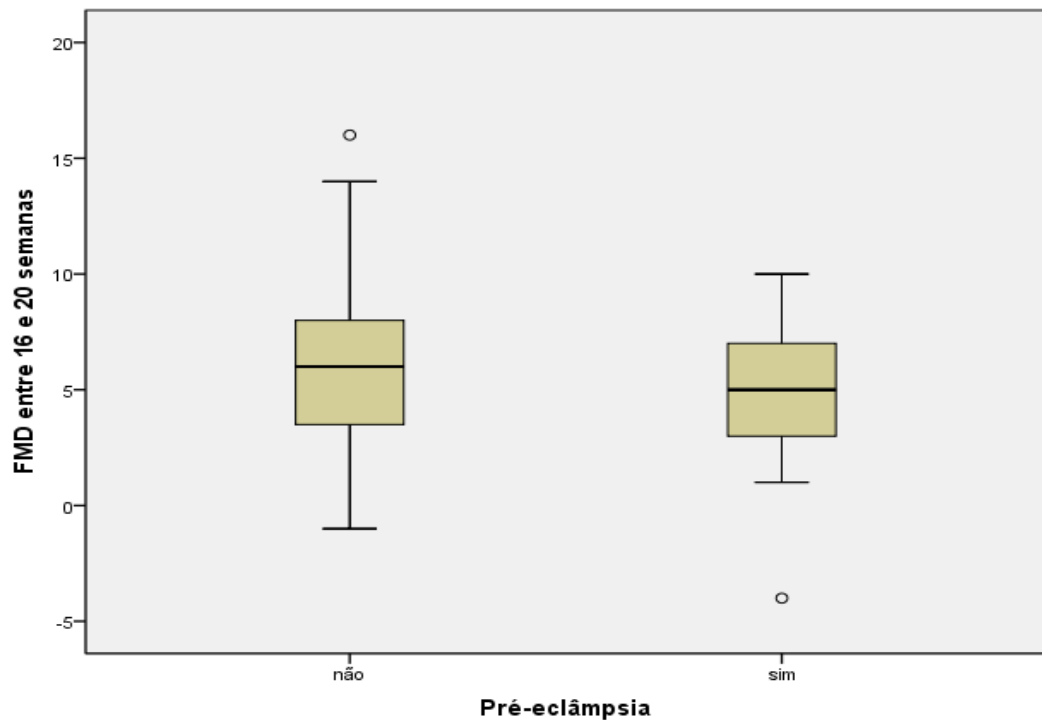


GRÁFICO 4 - Comportamento da dilatação fluxo-mediada (FMD) de 24 a 28 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia

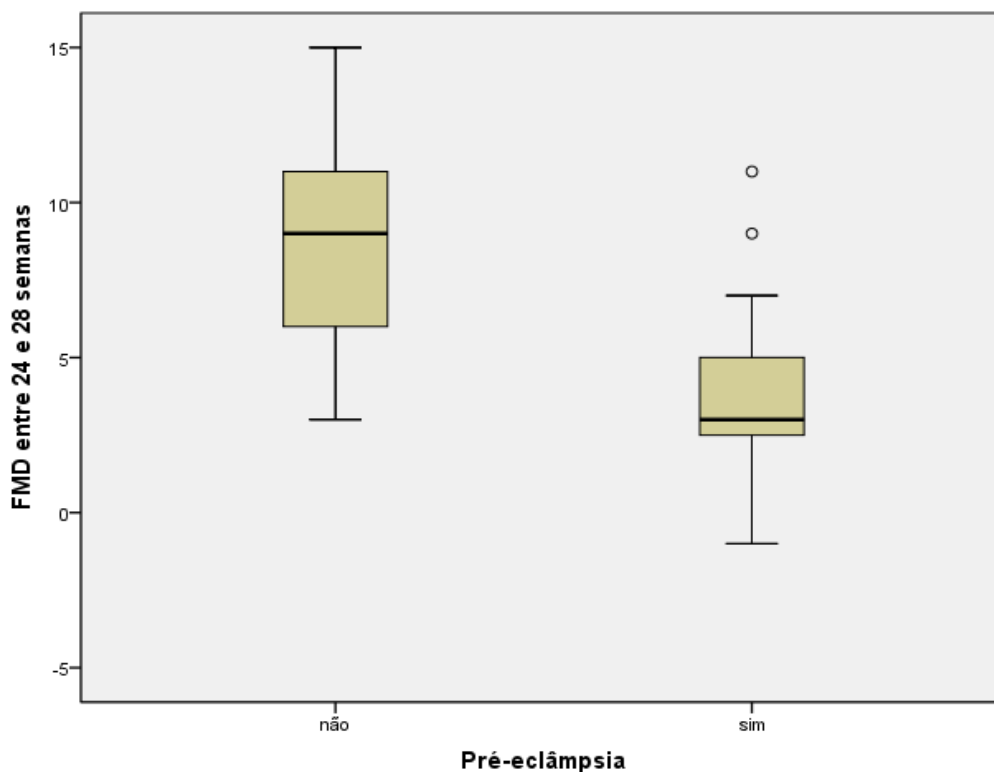


TABELA 5 - Comparação das variáveis clínicas entre os dois intervalos de tempo estudados

Variáveis	Pré-eclâmpsia			Normotensas		
	16 ⁺⁰ a 19 ⁺⁶ semanas	24 ⁺⁰ a 27 ⁺⁶ semanas	Valor-p	16 ⁺⁰ a 19 ⁺⁶ semanas	24 ⁺⁰ a 27 ⁺⁶ semanas	Valor-p
IP artérias uterinas	1,42±0,21	1,18±0,18	<0,0001 ¹	1,04±0,27	0,85±0,14	<0,0001 ²
FMD (%)	4,53±3,29	4,16±2,75	0,457 ¹	6,00±5,00	9,00±5,00	<0,0001 ²
PAM (mmHg)	93,33±10,00	93,33±13,33	0,232 ²	93,33±10,00	83,33±10,00	<0,0001 ²

1 Teste T pareado 2 Teste Wilcoxon. PAM: pressão arterial média.

A análise da TAB. 5 demonstra que, quando comparados os dois intervalos de tempo estudados, houve significativa redução nos valores de IP-AUt nos dois grupos avaliados. O grupo de pacientes que se mantiveram normotensas apresentou aumento nos valores de FMD entre as duas avaliações e diminuição

nos valores de PAM, o que não se verificou no grupo de pacientes que desenvolveram PE, que não exibiram diferença nos dois períodos de tempo entre essas duas variáveis.

TABELA 6 – Distribuição dos fatores de risco entre os dois grupos estudados

Fatores de risco	Normotensas	Pré-eclâmpsia	Total
Diabetes <i>mellitus</i>	10 (13,9)	1 (5,3)	11 (12,1)
História familiar	5 (6,9)	2 (10,5)	7 (7,7)
Gemelaridade	2 (2,8)	0 (0,0)	2 (2,2)
HAC	13 (18,1)	5 (26,3)	18 (19,8)
Idosa	2 (2,8)	0 (0,0)	2 (2,2)
Colagenoses	1 (1,4)	1 (5,3)	2 (2,2)
Obesidade	5 (6,9)	0 (0,0)	5 (5,5)
História pessoal	16 (22,2)	10 (52,6)	26 (28,6)
Primigesta	14 (19,4)	0 (0,0)	14 (15,4)
Trombofilias	4 (5,6)	0 (0,0)	4 (4,4)
Total	72 (100)	19 (100)	91 (100)

Valor de p para teste qui-quadrado de Pearson exato = 0,099.

HAC: Hipertensão arterial crônica.

Na TAB. 6 verifica-se não haver diferença na distribuição dos fatores de risco para PE entre os dois grupos estudados.

5.2 Comparação entre os grupos de gestantes normotensas e gestantes com pré-eclâmpsia formas precoce e tardia

TABELA 7 – Características clínicas e perinatais do grupo de pacientes com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce, desenvolvimento de pré-eclâmpsia tardia e o grupo de pacientes que se mantiveram normotensas

Variável	Pré- eclâmpsia	Pré- eclâmpsia	Normotensas	Valor-p
	Precoce	Tardia		
	n=8	n=11		
Idade materna (média±DP)	31,88±5,64	29,36±3,0	29,18±6,24	0,344*
Peso pré-concepcional (mediana±II)	66,00±38,00	59,50±22,00	62,5±20,5	0,433**
Paridade (mediana±II)	2,00±2,25	2,40±3,67	2,50±3,55	0,250**
Idade gestacional do parto (mediana±II)	32,86±2,00	36,50±2,00	39,00±1,00	0,001**
Peso fetal (mediana±II)	2075,00±450,00	2750,00±273,00	3100,00±288,00	<0,001**
IMC (mediana±II)	24,92±7,90	22,50±7,76	23,10±8,10	0,408**
Raça (n %)				0,313***
Faioderma	5 (62,5)	3 (27,0)	25 (35,0)	
Leucoderma	2 (25,0)	3 (27,0)	29 (40,0)	
Melanoderma	1 (12,5)	5 (46,0)	18 (25,0)	

*teste ANOVA ** Teste Kruskal-Wallis*** Teste qui-quadrado de Pearson exato.

A TAB. 7 demonstra não haver diferença significativa entre a idade materna, o peso pré-concepcional da gestante, a paridade, o índice de massa corporal ou a raça da paciente entre os três grupos estudados. Pacientes com desenvolvimento de PE precoce apresentaram menor idade gestacional no momento do parto quando comparadas às que desenvolveram a forma tardia da PE ($p=0,005$) e quando comparadas às que se mantiveram normotensas ($p=0,026$). Pacientes que desenvolveram a forma tardia de PE também tiveram o parto em idades gestacionais mais precoces quando comparadas às normotensas ($p=0,007$). O peso fetal foi significativamente menor em pacientes com desenvolvimento de PE precoce ou tardia, quando comparadas ao grupo das que se mantiveram

normotensas ($p=0,047$ e $p=0,017$; respectivamente). Não houve diferença entre as duas apresentações clínicas de PE (0,071).

TABELA 8 – Resultados dos testes e dos valores de pressão arterial média nos grupos de pacientes com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce, desenvolvimento de pré-eclâmpsia tardia e no grupo das que se mantiveram normotensas

Variável	Pré-eclâmpsia			Valor-p
	Pré-eclâmpsia Precoce	Pré-eclâmpsia Tardia	Normotensas	
	n=8	n=11	n=72	
IP artérias uterinas				
16 ⁺⁰ a 19 ⁺⁶ semanas (média±DP)	1,48±0,28	1,24±0,10	1,05±0,23	<0,001*
24 ⁺⁰ a 27 ⁺⁶ semanas (mediana±II)	1,27±0,20	1,07±0,35	0,84±0,17	<0,001**
Incisura bilateral (n %)				<0,001***
Presente	6 (75,0)	6 (54,5)	9 (12,5)	
Ausente	2 (25,0)	5 (45,5)	63 (87,5)	
FMD (%)				
16 ⁺⁰ a 19 ⁺⁶ semanas (mediana±II)	4,50±4,03	4,55±2,54	6,01±3,38	0,146**
24 ⁺⁰ a 27 ⁺⁶ semanas (mediana±II)	4,00±6,00	3,00±3,00	9,00±5,00	<0,001**
PAM (mmHg)				
16 ⁺⁰ a 19 ⁺⁶ semanas (mediana±II)	92,91±12,50	92,42±3,33	93,33±12,50	0,271**
24 ⁺⁰ a 27 ⁺⁶ semanas (mediana±II)	95,00±5,83	89,69±13,33	85,06±10,00	0,016**
Variação PAM (mediana±II) (%)	1,78±13,27	0,00±18,40	-7,14±11,01	0,245**
Variação FMD (mediana±II) (%)	-8,33±73,86	0,00±40,00	42,85±110,00	0,001**
Variação IP-AU médio(média±DP)(%)	-14,21±10,20	-12,21±13,23	-17,49±19,32	0,773*

*teste ANOVA ** Teste Kruskal-Wallis*** Teste qui-quadrado de Pearson exato.

No primeiro período de avaliação das pacientes no estudo, não houve diferença significativa no valor de PAM entre os três grupos. Todavia, entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ semanas, pacientes com desenvolvimento de PE precoce apresentaram valores mais altos que pacientes que se mantiveram normotensas ($p=0,037$). Não houve diferença entre as duas formas clínicas de PE ($p=0,411$) ou entre o grupo de pacientes que desenvolveram PE tardia e o grupo que se manteve normotenso ($p=0,269$).

Em relação aos testes ultrassonográficos utilizados no estudo, pacientes que desenvolveram PE, em suas formas precoce e tardia, manifestaram valores de IP-AUt mais altos entre 16⁺⁰ e 19⁺⁶ semanas de gestação, quando comparadas ao grupo de pacientes normotensas ($p < 0,001$ e $p = 0,001$, respectivamente). Não houve diferença entre as duas formas clínicas de PE ($p = 0,398$). Entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ semanas, os valores de IP-AUt foram mais altos em pacientes com desenvolvimento de PE precoce quando comparadas ao grupo de normotensas ($p = 0,009$). Não se apurou diferença entre as duas formas clínicas da PE ($p = 0,780$) ou entre pacientes com desenvolvimento de PE tardia ou normotensas ($p = 0,063$). Os resultados de FMD não se mostraram diferentes entre os grupos no intervalo de 16⁺⁰ a 19⁺⁶ semanas. Entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ semanas, pacientes com desenvolvimento das duas formas de PE tiveram valores de FMD significativamente mais baixos quando comparadas ao grupo de gestantes normotensas ($p = 0,013$ para a forma precoce e $p < 0,001$ para a forma tardia). Não houve diferença entre os grupos com desenvolvimento de PE ($p = 0,475$).

Quando analisadas as variações entre os exames e a PAM entre os dois intervalos estudados, verifica-se que não houve diferença entre os três grupos nas variações de IP-AUt e PAM. Em relação à variação nos resultados de FMD, constata-se menor variação em pacientes com desenvolvimento de PE, precoce ou tardia, quando comparadas a pacientes normotensas ($p = 0,035$ e $p = 0,004$, respectivamente). Não houve diferença entre as duas formas de PE ($p = 0,844$).

Nos GRÁF. 5 a 8 a seguir apresenta-se o comportamento dos exames realizados entre os três grupos de gestantes (normotensas, desenvolvimento de PE precoce e desenvolvimento de PE tardia).

GRÁFICO 5 - Comportamento do índice de pulsatilidade (IP) médio das artérias uterinas de 16 a 20 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce e tardia

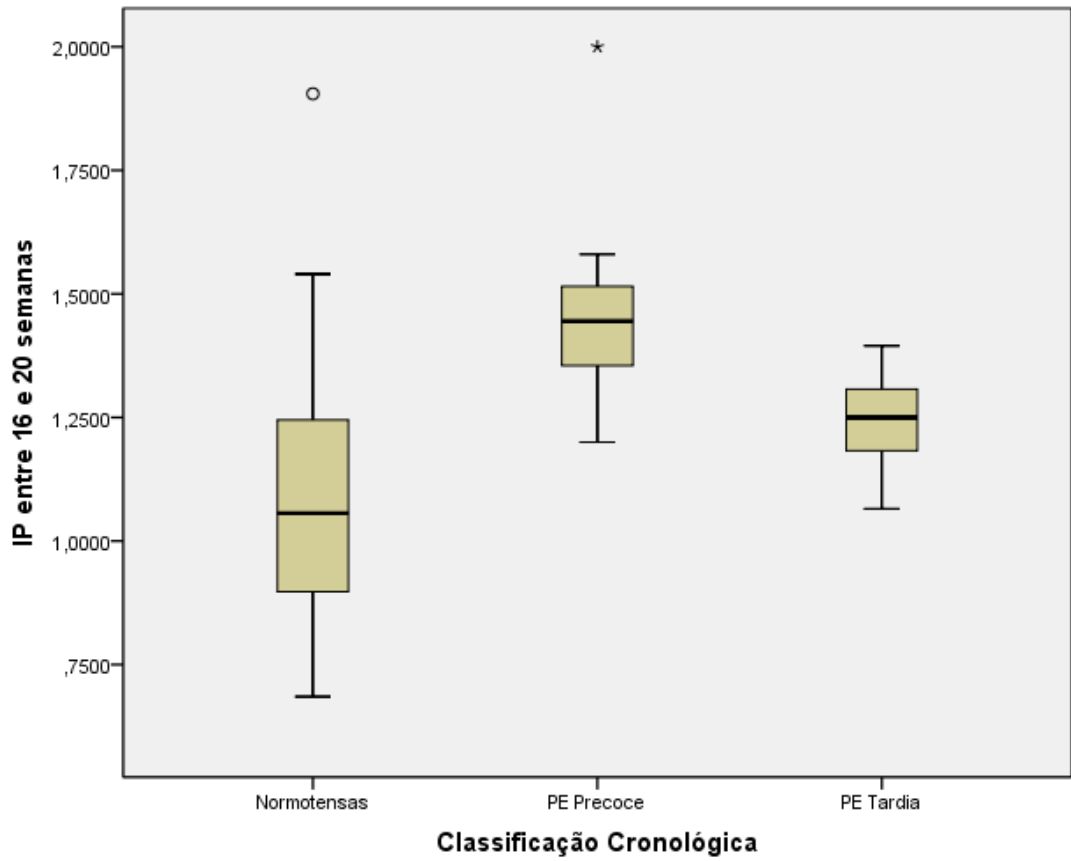


GRÁFICO 6 - Comportamento do índice de pulsatilidade (IP) médio das artérias uterinas de 24 a 28 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce e tardia

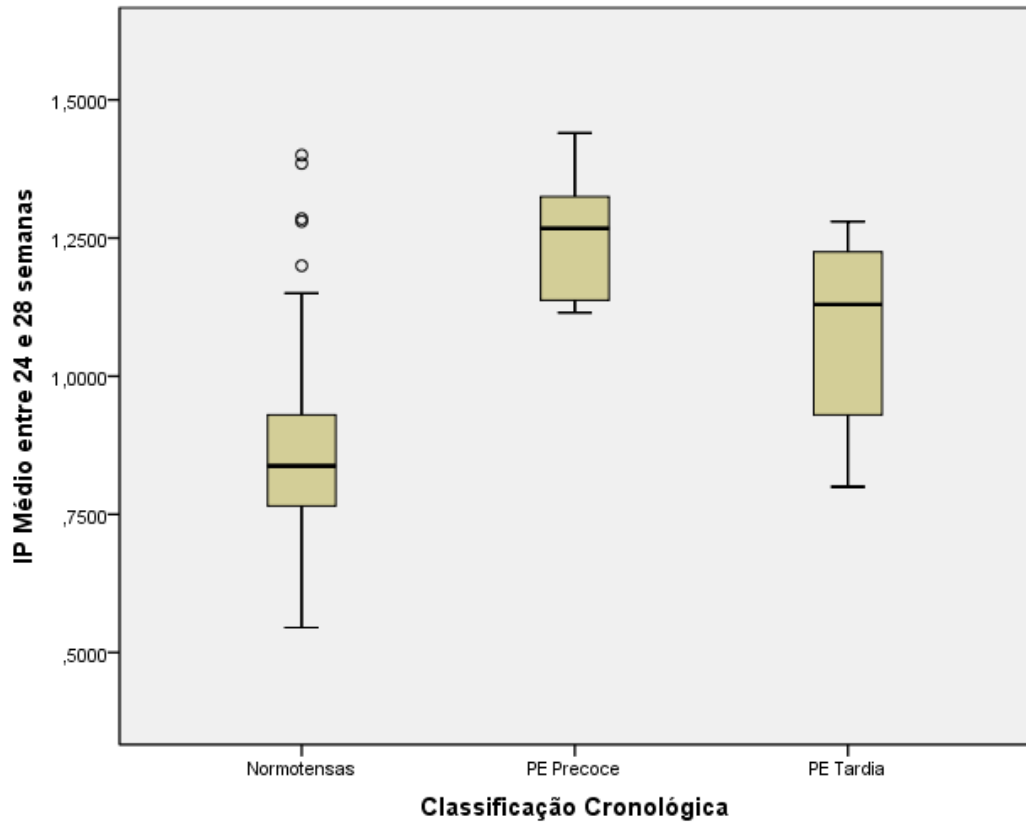


GRÁFICO 7 - Comportamento da dilatação fluxo-mediada (FMD) de 16 a 20 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce e tardia

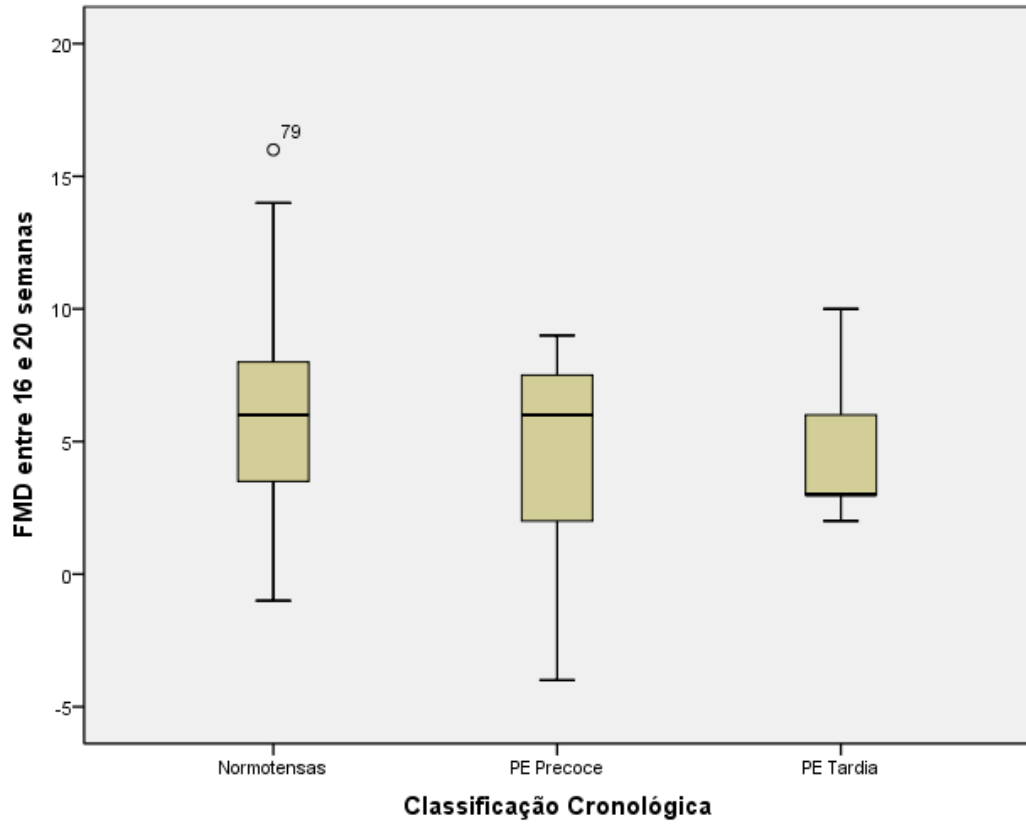


GRÁFICO 8 - Comportamento da dilatação fluxo-mediada (FMD) de 24 a 28 semanas entre os grupos de gestantes normotensas e com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce e tardia

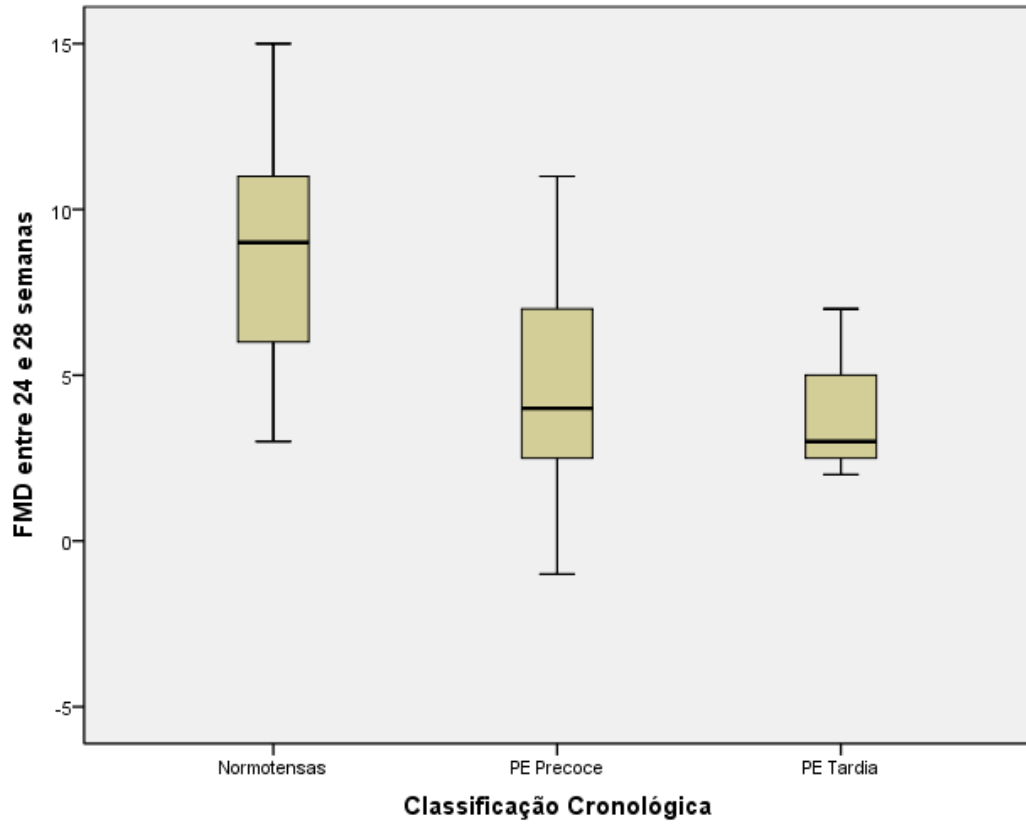


TABELA 9 - Comparação das variáveis clínicas entre os dois intervalos de tempo estudados

Normotensas	16+0 a 19+6	24+0 a 27+6	Valor de p
IP artérias uterinas	1,05±0,23	0,84±0,17	<0,001*
FMD (%)	6,01±3,38	9,00±5,00	<0,001**
PAM (mmHg)	93,33±12,50	85,06±10,00	<0,001*
PE precoce			
IP artérias uterinas	1,48±0,28	1,27±0,20	0,008*
FMD (%)	4,50±4,03	4,00±6,00	0,526**
PAM (mmHg)	92,91±12,50	95,00±5,83	0,399**
PE tardia			
IP artérias uterinas	1,24±0,10	1,07±0,35	0,020**
FMD (%)	4,55±2,54	3,00±3,00	0,609**
PAM (mmHg)	92,42±3,33	89,69±13,33	0,125**

* Teste T pareado **Teste Wilcoxon.

Os dados presentes na TAB. 9 demonstram que o grupo de pacientes que se mantiveram normotensas apresentou, entre os dois intervalos de tempo estudados, significativa redução nos valores de IP-AUt e PAM, além de aumento nos valores obtidos no teste de FMD. Pacientes com desenvolvimento de PE, nas formas precoce ou tardia, exibiram redução nos valores de IP-AUt. Entretanto, não houve diferença nos valores de PAM ou FMD entre os intervalos estudados.

TABELA 10 – Distribuição dos fatores de risco entre o grupo de pacientes que se mantiveram normotensas, com desenvolvimento de pré-eclâmpsia precoce e tardia

Fatores de Risco	Normotensas	PE Precoce	PE tardia	Total
DM	10 (13,9)	0	1 (8,3)	11 (12,1)
História familiar	5 (6,9)	0	2 (16,7)	7 (7,7)
Gemelaridade	2 (2,8)	0	0	2 (2,2)
Hipertensão arterial crônica	13 (18,1)	3 (37,5)	2 (16,7)	18 (19,8)
Idade materna > 35 anos	2 (2,8)	0	0	2 (2,2)
Colagenoses	1 (1,4)	0	1 (8,3)	2 (2,2)
Obesidade	5 (6,9)	0	0	5 (5,5)
História pessoal	16 (22,2)	5 (62,5)	5 (41,7)	26 (28,6)
Primigesta	14 (19,4)	0	0	14 (15,4)
Trombofilias	4 (5,6)	0	0	4 (4,4)
Total	72 (100)	8 (100)	12 (100)	91 (100)

Valor de p para teste qui-quadrado de Pearson assintótico = 0,625.

Não se apurou diferença na distribuição dos fatores de risco para PE entre os três grupos estudados, de acordo com a TAB. 10.

5.3 Avaliação do índice de pulsatilidade das artérias uterinas, incisura bilateral protodiastólica e FMD na predição da pré-eclâmpsia

TABELA 11 – Sensibilidade, especificidade e valores preditivos da incisura bilateral protodiastólica para predição de pré-eclâmpsia, pré-eclâmpsia precoce e pré-eclâmpsia tardia

	Sensibilidade	Especificidade	Valor preditivo positivo	Valor preditivo negativo
Pré-eclâmpsia	63,1%	87,5%	57,1%	90,0%
PE precoce	75,0%	87,5%	40,0%	96,9%
PE tardia	54,5%	87,5%	40,0%	92,6%

QUADRO 2 - Valores para interpretação da área sob a curva ROC na eficiência estatística

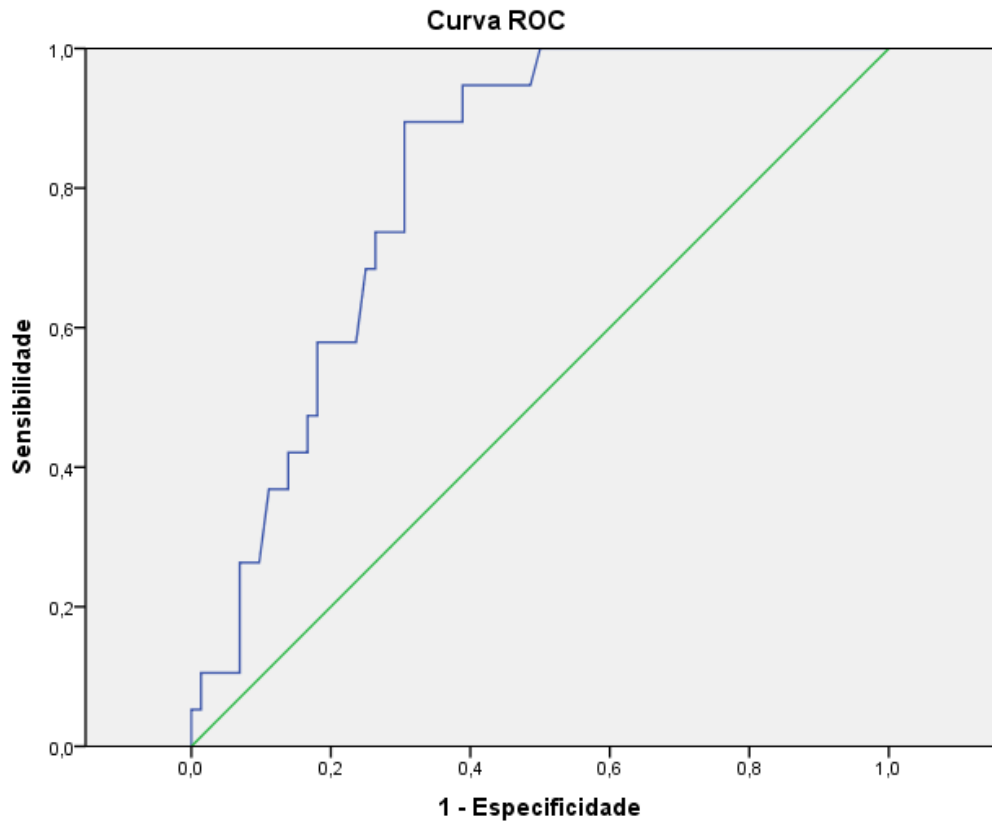
Área (AUC)	Qualidade do diagnóstico
0.9 a 1.0	Excelente
0.8 a 0.9	Bom
0.7 a 0.8	Regular
0.6 a 0.7	Ruim
0.5 a 0.6	Insignificante

Fonte: Martinez, Lozada-Neto e Pereira (2003).

TABELA 12 – Avaliação da predição da pré-eclâmpsia pelos métodos estudados e nos momentos avaliados

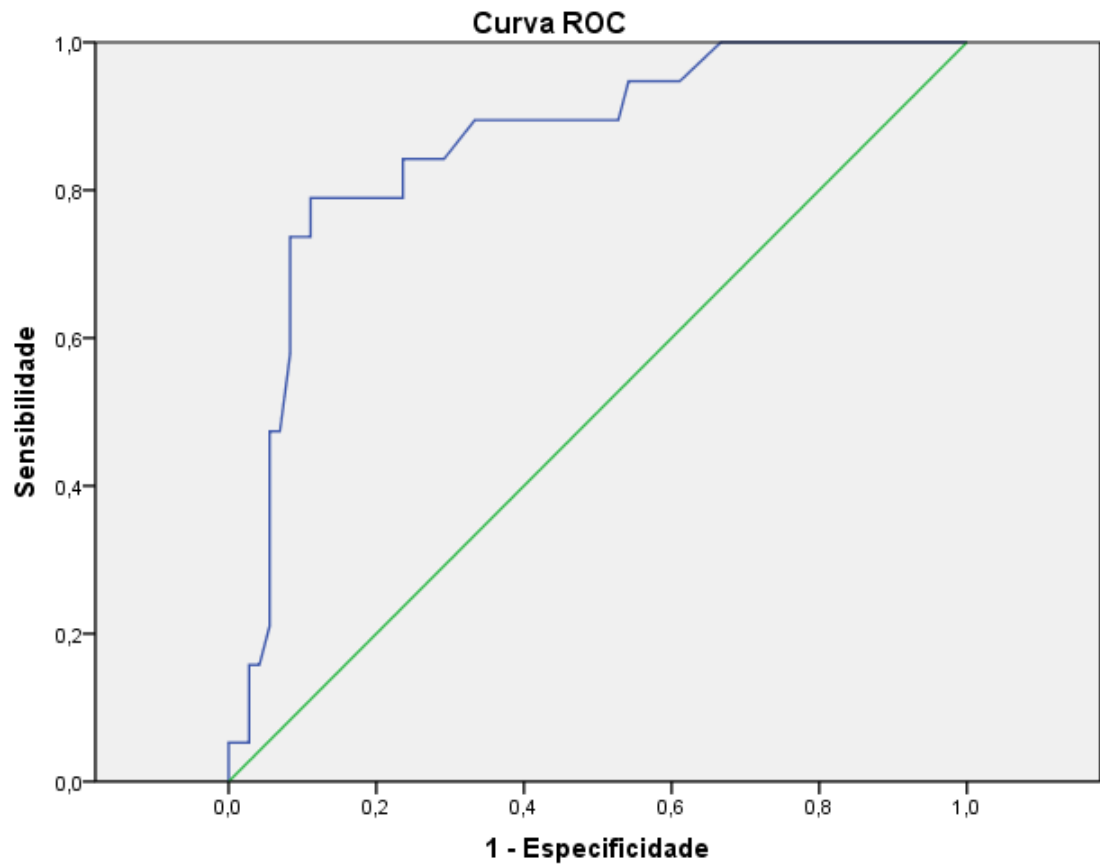
	Área sob a curva	Intervalo de Confiança	Valor p
IP artérias uterinas entre 16 ⁺⁰ e 19 ⁺⁶ sem	0,808	0,719-0,897	0,021
IP artérias uterinas entre 24 ⁺⁰ e 27 ⁺⁶ sem	0,863	0,772-0,954	<0,001
FMD entre 16 ⁺⁰ e 19 ⁺⁶ semanas	0,602	0,462-0,743	0,172
FMD entre 24 ⁺⁰ e 27 ⁺⁶ semanas	0,864	0,769-0,959	<0,001

GRÁFICO 9 - Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas entre 16⁺⁰ e 19⁺⁶ X pré-eclâmpsia (precoce + tardia)



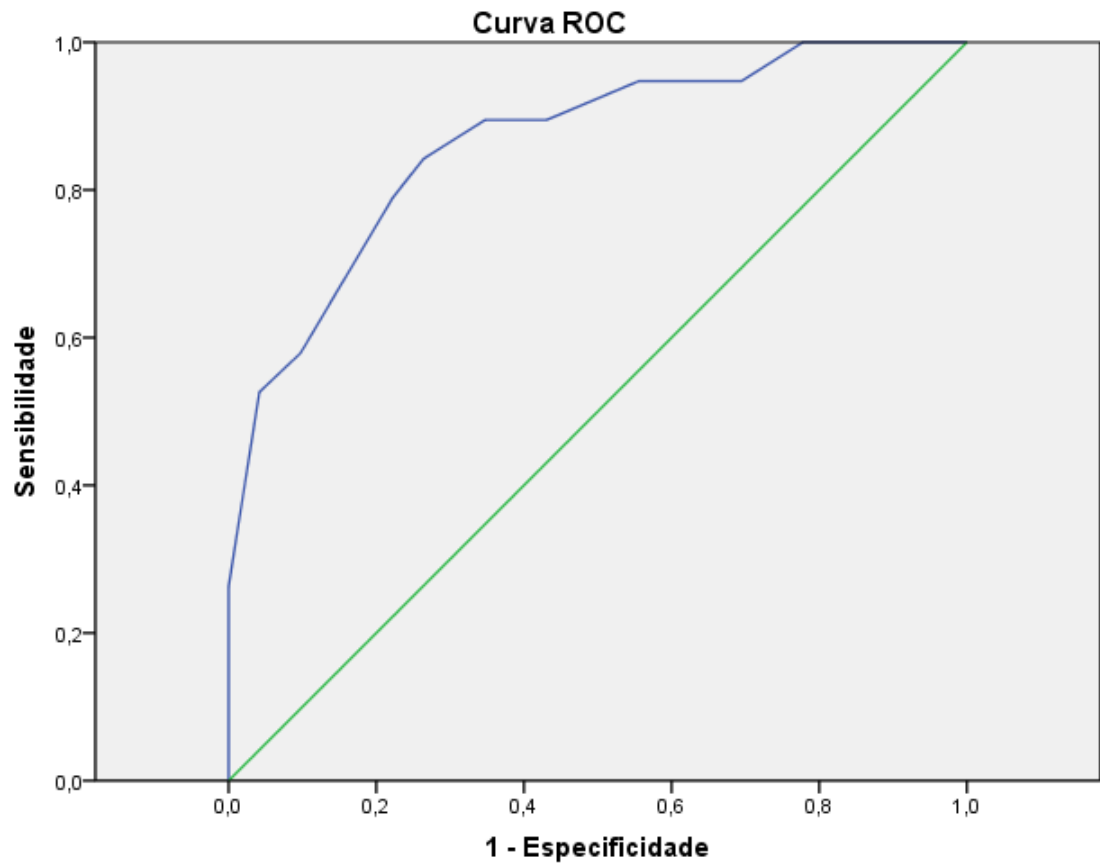
<i>Cut-off</i>	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
1,16	89,5%	66,7%	41,4%	96,1%
1,22	73,7%	73,6%	42,4%	91,4%
1,40	26,3%	90,3%	41,7%	82,2%
1,51	10,5%	95,8%	39,7%	80,4%

GRÁFICO 10 - Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ X pré-eclâmpsia (precoce + tardia)



Cut-off	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
0,92	94,7%	70,8%	46,1%	98,0%
0,99	84,2%	81,9%	55,1%	95,1%
1,06	68,4%	88,9%	61,9%	91,4%
1,14	57,9%	91,7%	64,8%	89,2%
1,27	36,8%	94,4%	63,4%	84,9%

GRÁFICO 11 - Dilatação fluxo-mediada entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ X pré-eclâmpsia (precoce + tardia)

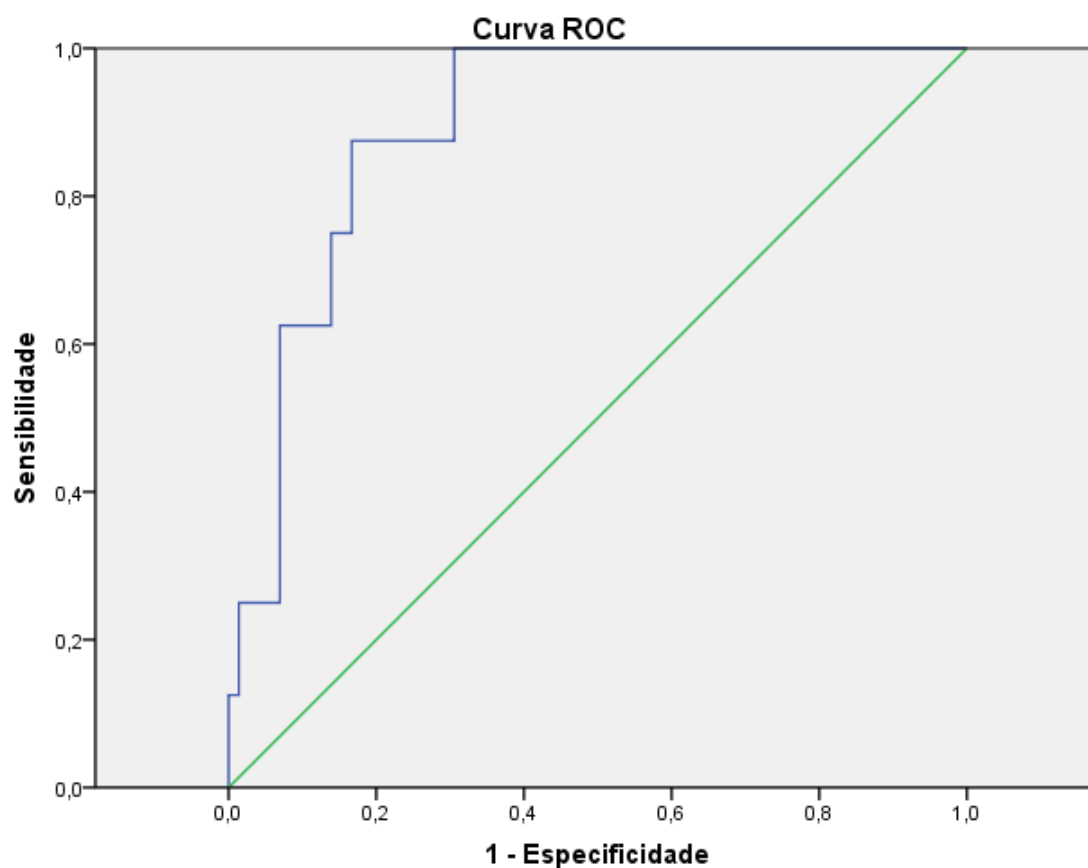


Cut-off	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
8,50%	89,5%	56,9%	35,4%	95,3%
6,50%	84,2%	73,6%	45,7%	94,6%
4,50%	57,9%	90,2%	61,1%	89,0%
3,50%	52,6%	95,8%	76,9%	88,4%

TABELA 13 – Avaliação da predição da pré-eclâmpsia precoce pelos métodos estudados e nos momentos avaliados

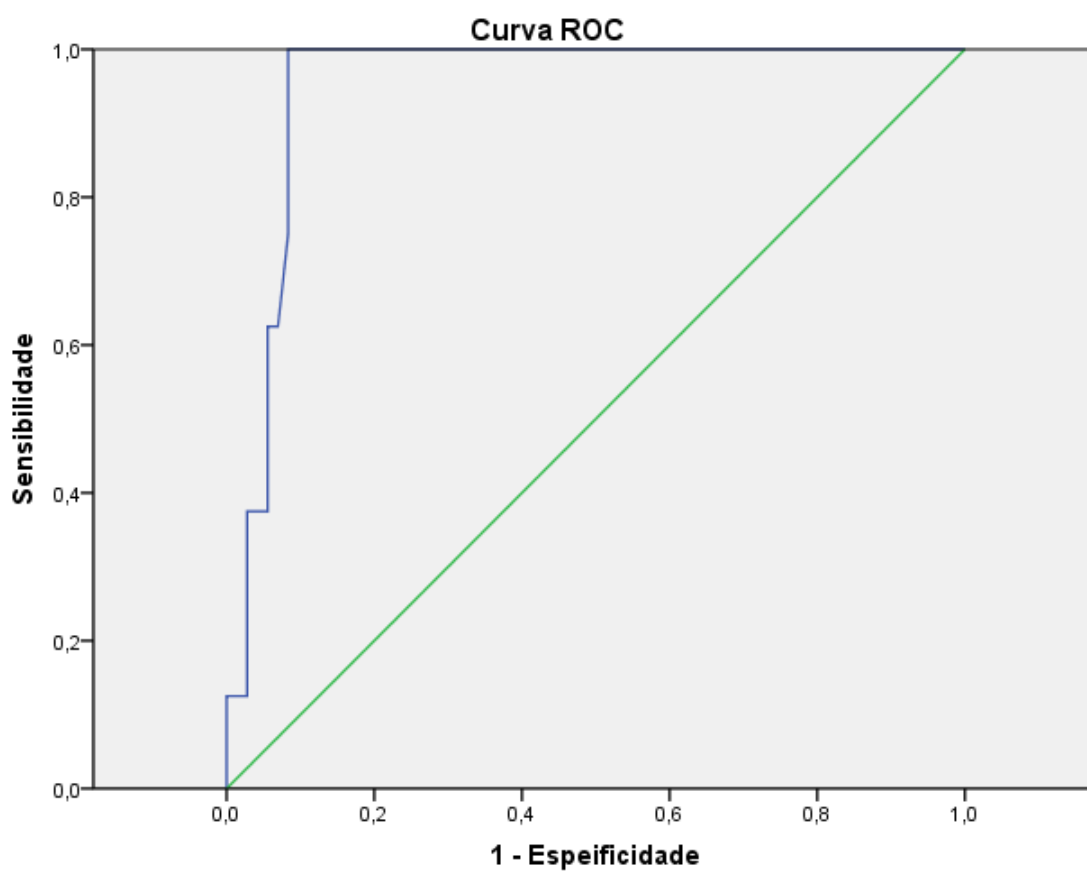
	Área sob a curva	Intervalo de Confiança	Valor p
IP artérias uterinas entre 16 ⁺⁰ e 19 ⁺⁶ sem	0,896	0,814-0,978	<0,001
IP artérias uterinas entre 24 ⁺⁰ e 27 ⁺⁶ sem	0,949	0,901-0,996	<0,001
FMD entre 16 ⁺⁰ e 19 ⁺⁶ semanas	0,557	0,339-0,776	0,597
FMD entre 24 ⁺⁰ e 27 ⁺⁶ semanas	0,801	0,618-0,984	0,005

GRÁFICO 12 - Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas entre 16⁺⁰ e 19⁺⁶ X pré-eclâmpsia precoce



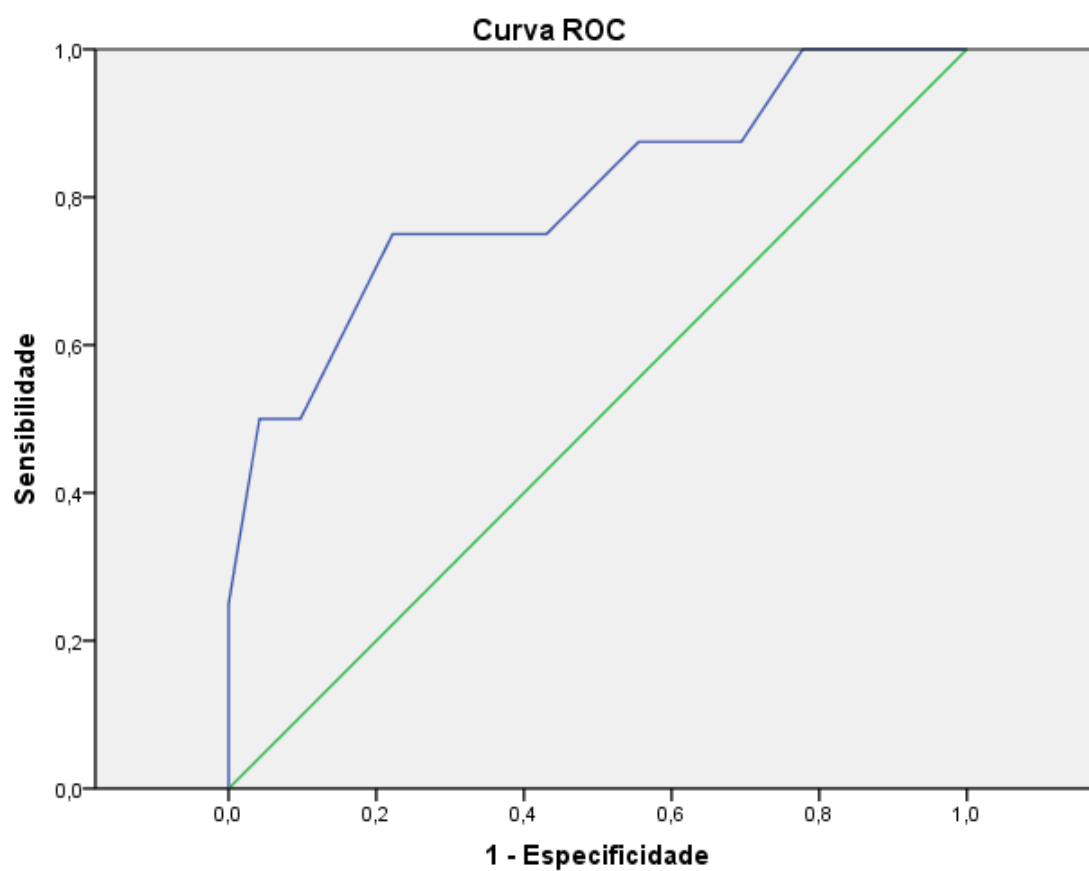
Cut-off	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
1,31	87,5%	81,9%	35,0%	98,3%
1,40	62,5%	90,3%	41,6%	95,5%
1,44	50,0%	93,4%	44,4%	94,3%
1,51	25,0%	95,8%	40,0%	92,0%

GRÁFICO 13 - Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ X pré-eclâmpsia precoce



Cut-off	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
1,12	87,5%	91,6%	53,8%	98,5%
1,23	62,5%	94,4%	55,5%	95,8%
1,30	35,0%	97,2%	60,0%	93,3%

GRÁFICO 14 - Dilatação fluxo-mediada entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ X pré-eclâmpsia precoce

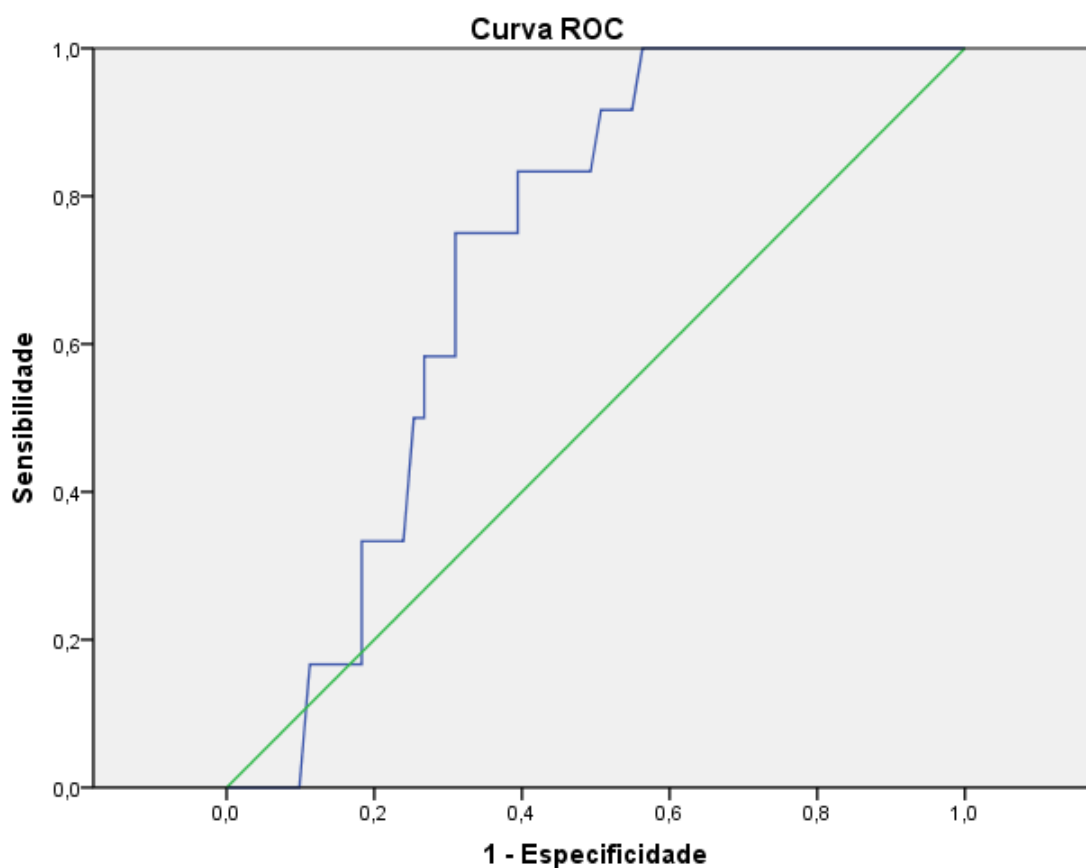


Cut-off	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
9,50%	87,5%	44,4%	21,0%	95,4%
6,50%	75,0%	73,6%	32,4%	94,6%
3,50%	50,0%	95,8%	66,9%	91,9%

TABELA 14 – Avaliação da predição da pré-eclâmpsia **tardia** pelos métodos estudados e nos momentos avaliados

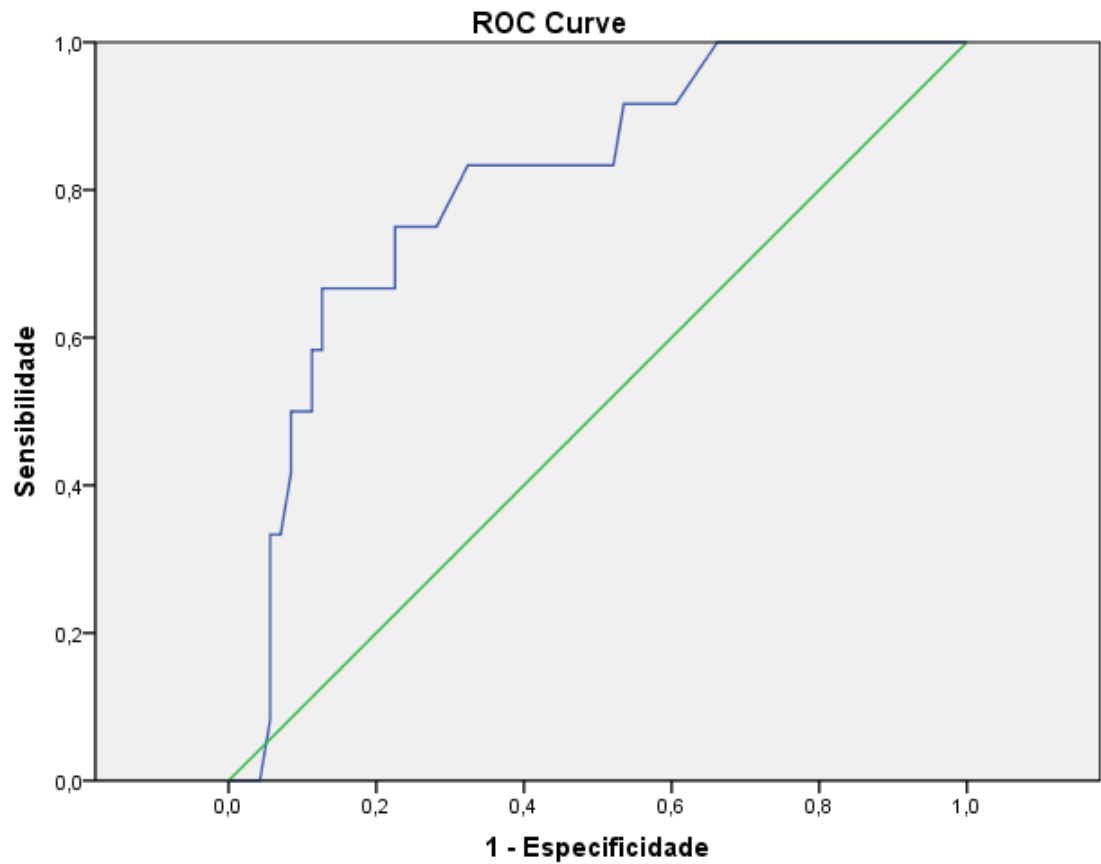
	Área sob a curva	Intervalo de Confiança	Valor p
IP artérias uterinas entre 16 ⁺⁰ e 19 ⁺⁶ sem	0,716	0,602-0,830	0,058
IP artérias uterinas entre 24 ⁺⁰ e 27 ⁺⁶ sem	0,809	0,686-0,932	0,001
FMD entre 16 ⁺⁰ e 19 ⁺⁶ semanas	0,600	0,435-0,764	0,271
FMD entre 24 ⁺⁰ e 27 ⁺⁶ semanas	0,840	0,694-0,985	<0,001

GRÁFICO 15 - Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas entre 16⁺⁰ e 19⁺⁶ X pré-eclâmpsia tardia



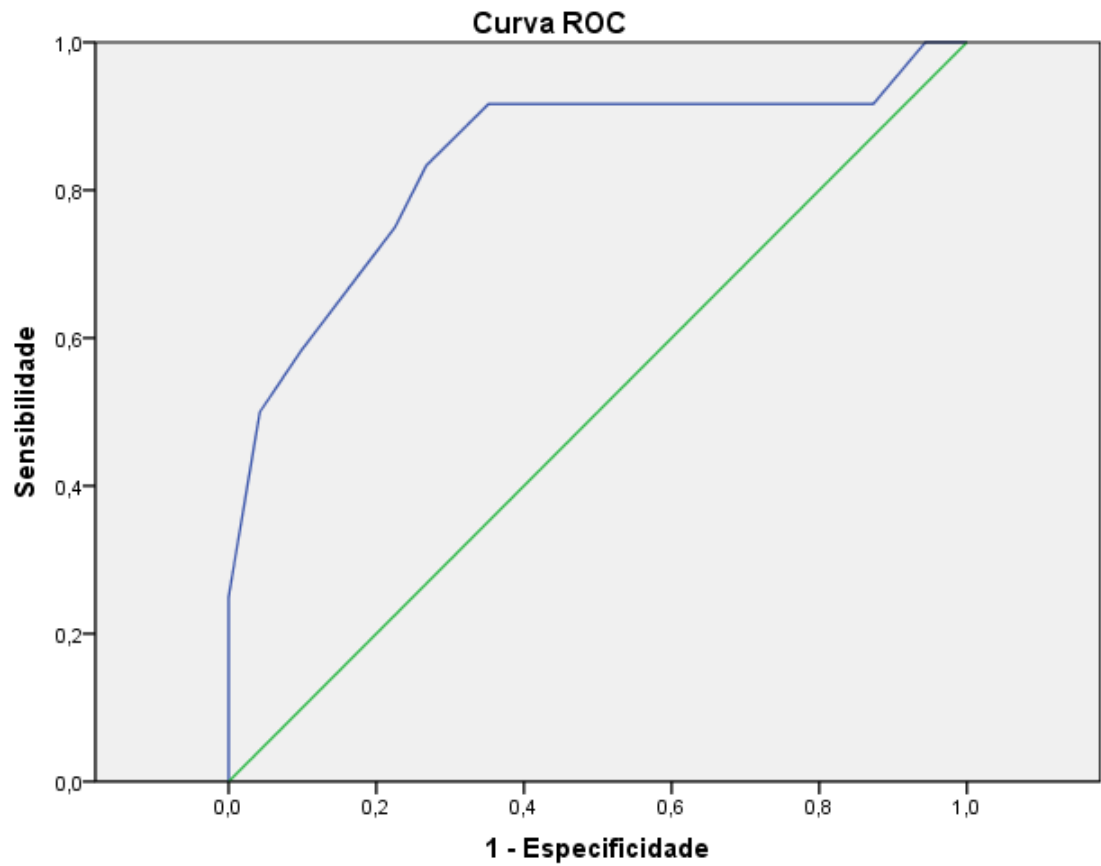
Cut-off	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
1,14	83,3%	60,5%	26,3%	95,5%
1,17	75,0%	69,0%	29,0%	94,2%
1,25	50,0%	74,6%	24,9%	89,0%

GRÁFICO 16 - Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ X pré-eclâmpsia tardia



<i>Cut-off</i>	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
0,90	83,3%	67,6%	30,2%	96,0%
0,95	75,0%	77,0%	35,9%	94,3%
1,02	66,7%	87,3%	47,0%	93,9%
1,08	50,0%	90,0%	46,1%	91,4%

GRÁFICO 17 - Dilatação fluxo-mediada entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ X pré-eclâmpsia tardia



Cut-off	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
7,50%	91,7%	64,7%	30,5%	97,8%
6,50%	83,3%	73,2%	34,4%	96,2%
5,50%	75,0%	77,4%	35,9%	94,8%
3,50%	50,0%	95,7%	66,6%	91,8%

TABELA 15 - Análise da predição da pré-eclâmpsia com a associação dos exames

Teste A IP médio entre	Teste B	Sensibilidade em série	Especificidade em série	Sensibilidade em paralelo	Especificidade em paralelo
16 e 20 semanas*	FMD entre 24 e 28 sem***	80,75%	98,00%	96,25%	62,00%
16 e 20 semanas*	Incisura bilateral	75,35%	91,20%	94,55%	49,00%
24 e 28 semanas**	FMD entre 24 e 28 sem***	79,73%	92,22%	97,16%	52,00%
24 e 28 semanas**	Incisura bilateral	59,75%	96,35%	96,05%	61,95%
Incisura bilateral	FMD entre 24 e 28 sem***	53,13%	96,70%	94,16%	64,40%

* Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas, *cut-off* utilizado 1,16, **Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas, *cut-off* utilizado 0,92, dilatação fluxo-mediada da artéria braquial 6,50%. Exame em série representa a realização posterior ao exame alterado. Exame em paralelo representa testes feitos simultaneamente, sem alteração prévia em um dos exames. A especificidade combinada dos testes em paralelo é representada pelo valor negativo de qualquer um dos dois testes.

TABELA 16 - Análise da predição da pré-eclâmpsia precoce com a associação dos exames

Teste A IP médio entre	Teste B	Sensibilidade em Série	Especificidade em Série	Sensibilidade em Paralelo	Especificidade em Paralelo
16 e 20 semanas*	FMD entre 24 e 28 sem***	80,75%	98,00%	97,25%	62,00%
16 e 20 semanas*	Incisura bilateral	65,62%	97,73%	96,87%	60,27%
24 e 28 semanas**	FMD entre 24 e 28 sem***	65,62%	97,78%	96,87%	67,41%
24 e 28 semanas**	Incisura bilateral	65,62%	98,95%	96,87%	70,15%
Incisura bilateral	FMD entre 24 e 28 sem***	56,25%	96,70%	93,75%	64,40%

* Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas, *cut-off* utilizado 1,31, **Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas, *cut-off* utilizado 1,12, dilatação fluxo-mediada da artéria braquial 6,50%. Exame em série representa a realização posterior ao exame alterado. Exame em paralelo representa testes feitos simultaneamente, sem alteração prévia em um dos exames. A especificidade combinada dos testes em paralelo é representada pelo valor negativo de qualquer um dos dois testes.

TABELA 17 - Análise da predição da pré-eclâmpsia tardia com a associação dos exames

Teste A	Teste B	Sensibilidade em Série	Especificidade em Série	Sensibilidade em Paralelo	Especificidade em Paralelo
IP médio entre 16 e 20 semanas*	FMD entre 24 e 28 sem***	69,38%	89,41%	92,21%	72,00%
IP médio entre 16 e 20 semanas*	Incisura bilateral	45,39%	95,06%	92,40%	52,93%
IP médio entre 24 e 28 semanas**	FMD entre 24 e 28 sem***	69,38%	91,31%	97,21%	49,48%
IP médio entre 24 e 28 semanas**	Incisura bilateral	45,39%	95,95%	92,40%	59,15%
IP médio entre Incisura bilateral	FMD entre 24 e 28 sem***	45,39%	96,65%	92,40%	64,05%

* Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas, *cut-off* utilizado 1,14, **Índice de pulsatilidade médio das artérias uterinas, *cut-off* utilizado 0,90, dilatação fluxo-mediada da artéria braquial 6,50%. Exame em série representa a realização posterior ao exame alterado. Exame em paralelo representa testes feitos simultaneamente, sem alteração prévia em um dos exames. A especificidade combinada dos testes em paralelo é representada pelo valor negativo de qualquer um dos dois testes.

6 DISCUSSÃO

6.1 Importância do estudo

As desordens hipertensivas durante a gestação constituem importante causa de morbimortalidade materna e fetal. Grande parte dos óbitos por essa causa poderia ser evitada a partir de acompanhamento das gestantes de maneira efetiva. Com o objetivo de prevenir ou amenizar as complicações da PE, é preciso antes entender os mecanismos fisiopatológicos responsáveis pelas manifestações clínicas da síndrome. O presente estudo contribuiu demonstrando que quando gestantes portadoras de fatores de risco (clínicos ou epidemiológicos) para o desenvolvimento da doença são acompanhadas pelos exames propostos, o comprometimento da função endotelial pode ser detectado pela FMD previamente ao aparecimento clínico da doença. Da mesma forma, e nesse mesmo tipo de gestantes, a deficiência na perfusão placentária, avaliada pela dopplerfluxometria de artérias uterinas, tem semelhante capacidade de predição.

O aumento da função endotelial durante o evoluir da gravidez é um fenômeno esperado e bem estudado. A capacidade de dilatação dos vasos sanguíneos, particularmente do leito arterial, é condição necessária para uma gestação saudável e se constitui numa das mais importantes adaptações fisiológicas da mulher: a gravidez. Quando ausente essa adaptação, frequentemente haverá comprometimento do prognóstico materno e fetal.

Essa função endotelial pode ser avaliada pelo teste de FMD, que já sido utilizado para prever eventos cardiovasculares em pacientes portadores de doenças endoteliais, como hipertensão arterial sistêmica (HAS) e DMG. Sua aplicação em outras especialidades médicas como Reumatologia, Endocrinologia e Nefrologia apresenta uma série de estudos com resultados interessantes, permitindo demonstrar ser a função endotelial um evento precursor de várias doenças e agravos estudados nessas áreas da Medicina. Mesmo com emprego há vários anos e mesmo com os bons resultados já publicados, a técnica de aplicação da

FMD carece de melhor padronização nos aspectos técnicos, situação que pode resultar em interpretações diferentes.

A técnica utilizada no presente estudo segue as recomendações de tutorial publicado pela *American Heart Association*, sendo a mais empregada nos estudos publicados nos últimos cinco anos. A escolha de alguns aspectos técnicos na realização da FMD, particularmente no que concerne ao local de compressão do membro superior, é inédita no nosso serviço e visa a adequar nossa metodologia à dos diversos centros no mundo que adotam o exame. Entretanto, até o início deste estudo, a técnica de escolha no nosso centro era significativamente diferente, semelhante à de outros centros brasileiros, o que impossibilita a comparação dos resultados aqui obtidos. Cabe ressaltar que, a partir de 2010, todas as pesquisas envolvendo o uso da FMD no Programa de Pós-graduação em Saúde da Mulher ou em qualquer outro programa da Faculdade de Medicina usam a mesma técnica descrita nesta pesquisa (BRANDÃO *et al.*, 2010b; RYAN *et al.*, 2010).

6.2 Avaliação da perfusão uterina e função endotelial em pacientes com desenvolvimento de pré-eclâmpsia

Nossos resultados mostram que pacientes que desenvolvem PE manifestam comprometimento no aumento da função endotelial, representado pelos resultados da FMD, que não se elevam na segunda metade gestacional quando comparados aos da primeira metade. Esse quadro indica que a adaptação fisiológica da gravidez que permite expansão plasmática e melhor perfusão de órgãos, inclusive útero e placenta, está comprometida precocemente em mulheres que irão desenvolver a pré-eclâmpsia. Por outro lado, pacientes que se mantêm normotensas até o final da gravidez possuem mais capacidade de dilatação vascular ao longo do período estudado da gestação.

É importante ressaltar que os resultados obtidos entre 16⁺⁰ e 19⁺⁶ semanas foram semelhantes entre os dois grupos, mas pôde ser observada significativa diferença entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ semanas. Com esses achados, pode-se supor que a disfunção

endotelial é detectável pela FMD na segunda metade gestacional, não sendo detectada na primeira metade gestacional. Caso a lesão endotelial não ocorra na primeira metade, concordando com a FMD, pode-se supor que a placentação deficiente durante o primeiro trimestre gestacional acontece antes da disfunção endotelial sistêmica e que essa disfunção endotelial provavelmente é secundária às anormalidades vasculares placentárias.

Huppertz (2008a) publicou teoria acerca da fisiopatologia da PE, trazendo para estágios mais precoces da diferenciação trofoblástica a gênese da cadeia de eventos fisiopatológicos que culminam nas manifestações clínicas da PE. Segundo o autor, comprometimento da linhagem trofoblástica primária ou, posteriormente, de sua linhagem vilosa seria responsável pelo desencadeamento da PE precoce, a partir de aumento na liberação de debris placentários na circulação materna. Esses debris seriam capazes de ativar cadeias de marcadores bioquímicos, que culminariam em estresse oxidativo, inflamação sistêmica e disfunção endotelial. Por sua vez, comprometimento endotelial sistêmico prévio à gestação, característico de pacientes com desenvolvimento de PE tardia, seria responsável por diminuição no *clearance* de debris placentários normalmente lançados na circulação materna. Nossos resultados concordam com essa teoria ao demonstrarem que as formas precoce e tardia da PE são caracterizadas por comprometimento da função endotelial, clinicamente detectável pela FMD, antes das manifestações clínicas da doença (HUPPERTZ, 2008a).

Em relação à perfusão das artérias uterinas, foram encontrados valores mais elevados de IP-AUt no grupo que desenvolveu PE, desde 16⁺⁰ e 19⁺⁶ semanas. Esses achados se assemelham aos de Llurba *et al.* (2009) e Onwudiwe *et al.* (2008), sendo que neste último foi realizado em idades gestacionais ainda mais precoces - 11⁺⁰ a 13⁺⁶ semanas. Em contrapartida, não houve diferença significativa na variação dos valores de IP-AUt ao longo da gestação entre os dois grupos. Apesar de apresentarem elevados valores de IP-AUt, pacientes com desenvolvimento de PE precoce tiveram resultados semelhantes aos de pacientes com desenvolvimento da forma tardia. Em ambos os grupos foram significativamente mais elevados que nas pacientes que se mantiveram

normotensas, tanto entre 16⁺⁰ e 19⁺⁶ como entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ semanas. Os resultados podem ser interpretados como indicativo de que a placentação deficiente se constitui em evento precoce em gestações complicadas pela PE, tanto na forma tardia como na precoce (LLURBA *et al.*, 2009; ONWUDIWE *et al.*, 2008).

6.3 Acuidade dos testes na predição de pré-eclâmpsia

A dopplerfluxometria de artérias uterinas se mostrou um teste com boa predição para PE, se considerada como única entidade ou se subdivida em formas tardia e precoce. É notável que, quando a subdivisão da PE é assumida, tanto a incisura bilateral protodiastólica quanto o IP-AUt, em qualquer um dos intervalos estudados, apresentam melhores efeitos para a predição de PE precoce. Resultados semelhantes já foram demonstrados por *Plasencia et al.* (2008): para taxa definida de 5% de falso-positivos encontraram sensibilidade próxima de 90% para PE precoce e 30% para PE tardia. Isso corrobora as teorias que atribuem à PE precoce uma etiologia majoritariamente relacionada à deficiência de perfusão placentária. Todavia, em relação à disfunção endotelial, o uso do teste de FMD se mostrou igualmente acurado para a predição das duas formas clínicas estudadas de PE.

Takase *et al.* (2003) apuraram, em um grupo de 43 gestantes japoneses, que a realização da FMD foi capaz de detectar 90% das pacientes com subsequente desenvolvimento de PE, sem diferenciação entre as formas tardia e precoce. O presente estudo não apresenta valores de testes tão bons, mas próximos, e corroboram a mesma teoria acerca da PE. Como descrito por Huppertz, a partir de fenômenos diferentes, a lesão endotelial e o estresse oxidativo são a via final da cadeia fisiopatológica que culmina nas manifestações clínicas da PE (HUPPERTZ, 2008a; PLASENCIA *et al.*, 2008).

6.4 Perspectivas e sugestões para novos estudos

A avaliação crítica e cuidadosa dos nossos resultados pode ter consequência clínica extremamente relevante: possíveis terapias que pudessem melhorar ou recuperar vasos de placentas não adequadamente perfundidas (elevados índices de IP-AUt) poderiam ser administradas precocemente na gestação, significativamente antes do aparecimento das manifestações clínicas da PE. Tentativa nesse sentido foi feita com o uso do ácido acetilsalicílico (AAS). Nossos resultados sugerem que a maior eficácia desse fármaco só seria atingida se administrado antes de 16 semanas de gestação, momento em que já se podem verificar problemas no processo de placentação. Analisando outros trabalhos na literatura, percebe-se ainda que, seguindo essa linha de raciocínio, essas terapias deveriam ser aplicadas ainda no primeiro trimestre de gestação, uma vez que valores elevados de IP-AUt já podem ser encontrados entre 11⁺⁰ e 13⁺⁶ semanas em gestações subsequentemente complicadas por PE (PLACENCIA *et al.*, 2008).

A associação da dopplerfluxometria de artérias uterinas com a FMD no intuito de identificar pacientes com subsequente desenvolvimento de PE não é inédita. Savvidou *et al.* (2003) utilizaram a incisura bilateral protodiastólica de artérias uterinas associada a baixos valores de FMD como marcadores para identificar pacientes com desenvolvimento posterior de PE. Nesse estudo também se analisou o nível sérico de ADMA (marcador bioquímico de lesão endotelial). Todos os marcadores estavam alterados em gestantes com desenvolvimento posterior de PE. Todavia, não houve diferenciação entre pacientes com desenvolvimento de PE precoce ou tardia e não foram apresentados valores de corte de FMD para identificação das pacientes que desenvolveram a doença (SAVVIDOU *et al.*, 2003).

6.5 Limitações do estudo

Esta pesquisa foi realizada acompanhando gestantes consideradas de alto risco para desenvolvimento de PE. Algumas apresentavam condições associadas à disfunção endotelial previamente à gestação, como HAC e DM. Isso pode explicar

a razão pela qual os resultados de FMD do grupo que não desenvolveu PE são inferiores aos encontrados por Takase *et al.* (2003) usando o mesmo método de avaliação endotelial indireta. De fato, entre 24⁺⁰ e 27⁺⁶ semanas, uma condição relacionada à fisiopatologia da PE pôde causar ainda mais disfunção endotelial, como demonstrado pela ausência de variação após o estresse hipoxêmico induzido pelo teste de FMD. Resultados semelhantes foram registrados por Noori *et al.* (2011), ao constatarem que pacientes com desenvolvimento de PE precoce ou tardia a partir de 20 semanas de gestação começam a manifestar redução nos valores de FMD, se acompanhadas longitudinalmente com esse exame (NOORI *et al.*, 2011; TAKASE *et al.*, 2003).

Pacientes primigestas sem outras comorbidades foram incluídas no grupo de estudo para representarem a real demanda obstétrica clínica cotidiana, sendo formado um grupo heterogêneo, mas representativo, das pacientes que se beneficiaram da predição acurada e precoce da PE.

Quanto ao resultado dos exames, percebe-se claramente que entre os dois momentos em que foram realizados há acentuada variação de desfechos. Isso já era esperado de acordo com dados da literatura com esses mesmos exames, sem, contudo, ser na mesma população estudada (alto risco de desenvolvimento de PE) e com idade gestacional distinta das nossas. Existem autores que realizaram a FMD e o doppler de uterina ainda no 1º trimestre da gestação. Seria naturalmente interessante que também o fizéssemos, mas as pacientes que chegam ao nosso serviço de PNDAR o fazem em idades gestacionais mais avançadas, o que dificulta a obtenção de amostra adequada.

A avaliação da função endotelial pela FMD provou-se um método confiável de análise da integridade do endotélio. No presente estudo, a FMD foi uma avaliação indireta da função endotelial, mas, como próximos passos, marcadores bioquímicos como a ADMA, fatores de angiogênese e peptídeos vasoativos poderiam ser adicionalmente utilizados para o mesmo propósito e poderiam validar nossos resultados. Também se sugere que a FMD seja aplicada em idades mais tardias da gestação em novas investigações. Isso seria

particularmente importante para a avaliação de pacientes que desenvolverão a forma tardia da PE.

A associação de dois métodos biofísicos mostrou-se acurada para identificar pacientes com alto risco de desenvolvimento de PE. Torna-se possível a identificação de um grupo que poderia se beneficiar de exames mais invasivos, como o teste da angiotensina II, ou mesmo de terapias ainda em estudo, como a suplementação dietética com L-arginina ou mesmo a administração de angiotensina 1-7. Além disso, a FMD poderia ser aplicada para se avaliar a resposta à introdução desses fármacos. Pode-se teorizar que, caso a lesão endotelial estabelecida seja revertida, ocorra concomitante diminuição no risco de desenvolvimento de PE.

7 CONCLUSÕES

- A função endotelial comprometida é um marcador importante do desenvolvimento de pré-eclâmpsia. Nosso estudo mostrou que é possível identificar esta situação pelo exame FMD entre 24 e 28 semanas. O exame alterado nesta faixa da idade gestacional associou-se ao desenvolvimento posterior de pré-eclâmpsia.
- A perfusão útero-placentária estudada pelo doppler das artérias uterinas (IP) também se altera em gestantes que desenvolvem pré-eclâmpsia, mostrando a relação desta doença da gravidez com a placentação. A perfusão placentária se mostra alterada significativamente antes das manifestações clínicas, estando em nosso estudo comprometidas entre 16 e 20 semanas gestacionais, nas mulheres que desenvolveram pré-eclâmpsia.
- A adequada perfusão uterina na primeira metade gestacional e a expansão da função endotelial na segunda metade da gravidez estiveram presentes nas mulheres que se mantiveram normotensas ao longo da gestação.
- A associação entre a avaliação do processo de placentação e da função endotelial a partir do IP-AUt e FMD apresentou boa capacidade de predição para a identificação de pacientes com futuro desenvolvimento de PE, abrindo interessantes perspectivas clínicas e científicas.

REFERÊNCIAS

ACOG PRACTICE BULLETIN. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. **Obstet Gynecol**, v. 99, n. 33, p. 159-67, Jan, 2002.

AGARWAL, A. Role of oxidative stress in female reproduction. **Reprod Biol Endocrinol**, v. 14, n. 3, p. 28, Jul. 2005.

AGUIAR, R.A.L.P. *et al.* Associação entre a incisura diastólica das artérias uterinas e a histologia do leito placentário em grávidas com pré-eclâmpsia. **RBGO**, v. 23, n. 7, 2001.

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

ARIAS, F. Placental histology and clinical characteristics of patients with preterm rupture of membranes. **Obstet Gynecol**, v. 89, p. 265-271, 1997.

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

AUDIBERT, F. Screening for pre-eclampsia: the quest for the Holy Grail? **Lancet**, v. 365, n. 9468, p. 1367-9 Apr. 2005.

BÖGER, R.H. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. **Cardiovasc Res**, v. 59, n. 4, p. 824-33, Oct. 2003.

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

BRANDÃO, A.H.F. *et al.* Aplicação prática da dilatação fluxo-mediada da artéria braquial em Ginecologia e Obstetrícia. **Femina**, v. 38, n. 5, maio 2010a.

BRANDÃO, A.H.F. *et al.* Predição de pré-eclâmpsia: a realidade atual e as direções futuras. **Femina**, v. 38, p. 487-491, 2010b.

BRANDÃO, A.H.F. *et al.* Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial como método de avaliação da função endotelial na pré-eclâmpsia e em gestantes normotensas. **RMMG**, v. 21, n. 1, p. 9-13, 2011.

BRANDÃO, A.H.F. *et al.* Dopplerfluxometria de artérias oftálmicas e avaliação da função endotelial nas formas precoce e tardia da pré-eclâmpsia. **Radiol Bras**, v. 45, n. 1, p. 20-23, jan-fev. 2012a.

BRANDÃO, A.H.F. *et al.* Acompanhamento longitudinal da função endotelial em gestações de mulheres saudáveis analisada pela Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial. **RMMG**, in press. 2012b.

BRODSZKI, J. *et al.* Vascular mechanical properties and endothelial function in pre-eclampsia with special reference to bilateral uterine artery notch. **Acta Obstet Gynecol Scand**, v. 87, n. 2, p. 154-62, 2008.

BROSENS, I.A. *et al.* The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. **Obstet Gynecol Annu**, v. 1, p. 177-191, 1972.

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

CAMPBELL, O.M.; GRAHAM, W.J. Strategies for reducing maternal mortality: getting on with what works. **The Lancet**, v. 368, n. 9543, pp. 1284-1299, 2006.

CARINE, M. *et al.* Hypoxia is responsible for soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1) but not for soluble endoglin induction in villous trophoblast. **Human Reproduction**, v. 23, n. 6, p. 1407-1415, 2008.

CELERMAJER, D.S. *et al.* Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. **J Am Coll Cardiol**, v. 24, p. 1468-74, 1994.

COOKE, J.P. Asymmetrical dimethylarginine: the Uber marker? **Circulation**, v. 109, n. 15, p. 1813-8, Apr. 2004.

DEKKER, G.A. *et al.* Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. **Am J Obstet Gynecol**, v. 173, p. 1042-1048, 1995.

DEMIR, B. The role of homocysteine, asymmetric dimethylarginine and nitric oxide in pre-eclampsia. **J Obstet Gynaecol**, v. 32, n. 6, p. 525-8, Aug. 2012.

DERWIG, I.E. Association of placental volume measured by MRI and birth weight percentile. **J Magn Res Imaging**, v. 34, p. 1125-1130, 2011.

DORUP, I. *et al.* Normal pregnancy is associated with enhanced endothelium-dependent flow-mediated vasodilation. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 276, p. H821-H825, 1999.

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

FOIDART, J.M. *et al.* Maternal plasma soluble endoglin at 11–13 weeks' gestation in pre-eclampsia. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 35, p. 680-687, 2010.

GRISHAM, M. *et al.* Chemistry and cytotoxicity of reactive oxygen metabolites. *In*: TAYLOR, A.E.; MATALON, S.; WARD, P. (eds.). **Physiology of oxygen Radicals**. Bethesda, MD: American Physiological Society; p. 1-19, 1986.

HEITZER, T. *et al.* Increased NAD(P)H oxidase-mediated superoxide production in renovascular hypertension: evidence for an involvement of protein kinase C. **Kidney Int**, v. 55, p. 252-260, 1999.

HUPPERTZ, B. Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. **Hypertension**, v. 51, n. 4, p. 970-5, 2008a.

HUPPERTZ, B. Longitudinal determination of serum placental protein 13 during development of preeclampsia. **Fetal Diagn Ther**, v. 24, n. 3, p. 230-6, 2008b. Epub 2008 Aug 28.

KAUFFMANN, P.; BLACK S.; HUPPERTZ, B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. **Biol Reprod**, v. 69, p. 1-7, Feb, 2003.

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

LLURBA, E. *et al.* Maternal history and uterine artery doppler in the assessment of risk for development of early- and late-onset preeclampsia and intrauterine growth restriction. **Obstet Gynecol Int**, p. 275613, 2009. Epub 2009 May 27.

LOWE, S.A. *et al.* Guidelines for the management of hypertensive disorders of pregnancy. **Aust N Z J Obstet Gynaecol**, v. 49, n. 3, p. 242-6, Jun. 2009.

MARTINEZ, E.Z.; LOZADA-NETO, F.; PEREIRA, B.B. A curva ROC para testes diagnósticos. **Cadernos Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 11, p. 7-31, 2003.

MASOURA, S. Biomarkers in pre-eclampsia: A novel approach to early detection of the disease. **J Obstet Gynaecol**, v. 32, n. 7, p. 609-16, Oct. 2012.

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. **Am J Obstet Gynecol**, St. Louis, v. 83, n. 1, p. 1689-1712, Jul. 2000.

NOORI, M. *et al.* Prospective study of placental angiogenic factors and maternal vascular function before and after preeclampsia and gestational hypertension. **Circulation**, v. 122, p. 478-487, 2011 (originally published on-line July 19, 2010).

NORWITZ, E.R.; FUNAI, E.F. Expectant management of severe preeclampsia remote from term: hope for the best, but expect the worst. **Am J Obst Gynecol**, p. 209-212, Sep. 2008.

NORWITZ, E.R. *et al.* Discriminatory proteomic biomarker analysis identifies free hemoglobin in the cerebrospinal fluid of women with severe preeclampsia. **Am J Obstet Gynecol**, v. 193, n. 3 Pt 2, p. 957-64, Sep. 2005.

ONWUDIWE, N. *et al.* Prediction of pre-eclampsia by a combination of maternal history, uterine artery Doppler and mean arterial pressure. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 32, n. 7, p. 877-83, 2008.

PALM, F. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH): expression, regulation, and function in the cardiovascular and renal systems. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 293, n. 6, p. H3227-45 Dec. 2007. Epub 2007 Oct 12.

PENNINGTON, K.A. *et al.* Preeclampsia: multiple approaches for a multifactorial disease. **Dis Model Mech**, v. 5, n. 1, p. 9-18, Ja. 2012.

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

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

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

RANA, S. *et al.* Sequential changes in antiangiogenic factors in early pregnancy and risk of developing preeclampsia. **Hypertension**, v. 50, p. 137-142, 2007.

REIS, Z.S.N. *et al.* Preeclâmpsia precoce e tardia: uma classificação mais adequada para o prognóstico materno e perinatal? **RBGO**, v. 32, p. 584-90, 2010.

ROBERTS, J.M.; LAIN, K.Y. Recent insights into the pathogenesis of pre-eclampsia. **Placenta**, v. 23, n. 5, pp. 359-372, 2002.

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

ROMERO, R. *et al.* A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small. **J Matern Fetal Neonatal Med**, v. 21, n. 1, p. 9-23, Jan. 2008.

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

SALOMÃO, C.M.N. **Correlação entre a dilatação fluxo mediada (FMD) da artéria braquial e os valores séricos maternos de PLGF e sFLT-1 em gestantes normais e complicadas por pré-eclampsia.** Tese de Mestrado. Faculdade de Medicina da UFMG, 2012.

SAVVIDOU, M.D. *et al.* Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop preeclampsia. **Lancet**, v. 361, p.1511-7, 2003.

SAVVIDOU, M.D. *et al.* Maternal arterial stiffness in women who subsequently develop pre-eclampsia. **PLoS One**, v. 6, n. 5, p. e18703, May, 2011.

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

SAVVIDOU, M.D. *et al.* Non-invasive assessment of endothelial function in normal pregnancy. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 15, n. 6, p. 502-7, 2000.

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

SIERRA-LAGUADO, J.; GARCIA, R.G.; LÓPEZ-JARAMILLO, P. Flow-mediated dilatation of the brachial artery in pregnancy. **Int J Gynaecol Obstet**, v. 93, n. 1, p. 60-1, 2006.

SILASI, M. *et al.* Abnormal placentation, angiogenic factors, and the Pathogenesis of preeclampsia. **Obstet Gynecol Clin N Am**, v. 37, p. 239-253, 2010.

TAKASE, B. *et al.* Flow-mediated dilation in brachial artery in the second half of pregnancy and prediction of pre-eclampsia. **J Hum Hypertension**, v. 17, n. 10, p. 697-704, 2003. Epub 2003/09/25.

TEIXEIRA, P.G. **Avaliação do valor preditivo do PLGF e sFIT-1 e do doppler das artérias uterinas no rastreamento da pré-eclâmpsia**. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina da UFMG, 2011.

THADHANI, R. *et al.* First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 89, p. 770-775, 2004.

VALENSISE, H. *et al.* Early and late preeclampsia: two different maternal hemodynamic states in the latent phase of the disease. **Hypertension**, v. 52, n. 5, p. 873-80, 2008.

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

ZYGMUNT, M. Angiogenesis and vasculogenesis in pregnancy. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, v. 110 (Suppl 1), p. S10-S18, 2003.

APÊNDICES E ANEXO

Apêndice A – Resultados para publicação

Apêndice B – Resultados para publicação

Apêndice C – Termo de consentimento livre e esclarecido

Avaliação da função endotelial e dos marcadores de angiogênese (PIGF e sflt-1) como métodos de predição da pré-eclâmpsia na primeira metade da gestação

A pré-eclâmpsia é uma doença grave na gestação, em que a pressão arterial se eleva, colocando em risco a mãe e o filho. Até o momento não se conhece exatamente como evitar seu aparecimento. Diversos estudos vêm sendo feitos na tentativa de entender por que ela acontece em algumas gestantes e em determinados casos de forma grave. A doença é marcada por alteração nos vasos sanguíneos do organismo, que pode ser avaliada por medida da dilatação dos vasos por meio do aparelho de ultrassom e por substâncias encontradas no sangue periférico.

Um exame chamado dilatação fluxo-mediada (FMD) é capaz de avaliar a função e a integridade do vaso nas gestantes com pré-eclâmpsia. O método consiste em apertar o braço com o manguito do aparelho de medir pressão arterial por quatro minutos e, a seguir, medir a dilatação dos vasos pelo aparelho de ultrassom. Esse exame não é invasivo, mas você poderá sentir um leve formigamento no braço, que desaparecerá em poucos segundos, sem causar qualquer dano.

Algumas substâncias encontradas no sangue periférico, chamadas de marcadores de angiogênese, PIGF e sFlt-1, também podem refletir as alterações nos vasos sanguíneos das gestantes com pré-eclâmpsia. Para isso, é preciso coletar uma amostra de sangue (10 mL) para análise em laboratório. A punção da veia do seu braço para retirada de 10 mL de sangue pode provocar dor de leve intensidade e às vezes levar à formação de um pequeno hematoma (coloração arroxeadada) no local e muito raramente vermelhidão. Esses dois exames não fazem parte da rotina do Hospital das Clínicas e você deve estar ciente de que os objetivos estão ligados somente à pesquisa.

O Centro de Medicina Fetal da UFMG (CEMEFE) é um importante centro de estudos, onde são desenvolvidas pesquisas que têm como objetivo aprimorar os métodos de diagnóstico da pré-eclâmpsia.

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

1- Eu,,
portadora de documento de identidade.....
expedido pela....., estou ciente do que foi exposto acima e autorizo a realização do exame do FMD (DILA), bem como a retirada de uma amostra de meu sangue para pesquisa. Participo voluntariamente deste estudo e estou ciente de que as amostras colhidas não trarão prejuízo à minha saúde ou do meu filho.

Assinatura da paciente:

Data:

Centro de Medicina Fetal –HC-UFMG – 3409-9422

Comitê de Ética em Pesquisa (COEP-UFMG): (31)3409-4592

Av. Antônio Carlos, 6.627 Unidade Administrativa II, 2^o andar - *Campus* Pampulha.

Belo Horizonte MG – CEP: 31270-901.

Anexo A – Parecer ético

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

Parecer nº. ETIC 280/08

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

DECISÃO

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

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

Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG