

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina

**ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE A
CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE
HOMOCISTEÍNA MATERNA
E A RESTRIÇÃO DE CRESCIMENTO FETAL**

FLÁVIA DE ALMEIDA

Belo Horizonte-MG

2009

FLÁVIA DE ALMEIDA

**ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE A
CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE
HOMOCISTEÍNA MATERNA
E A RESTRIÇÃO DE CRESCIMENTO FETAL**

Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação em Saúde da Mulher da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Perinatologia

Orientadora: Professora Alamanda Kfoury Pereira.

**Belo Horizonte – MG
Universidade Federal de Minas Gerais**

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Magnífico Reitor da UFMG

Prof. Ronaldo Tadêu Pena

Vice-Reitora da UFMG

Prof^a. Heloísa Maria Murgel Starling

Pró-Reitora de Pós-Graduação

Prof^a. Elizabeth Ribeiro da Silva

Pró-Reitor de Pesquisa

Prof. Carlos Alberto Pereira

Diretor da Faculdade de Medicina

Prof. Francisco José Pena

Coordenador do Centro de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina

Prof. Carlos Faria dos Santos Amaral

Chefe do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia

Prof. João Gilberto de Castro e Silva

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher

Prof. Dr. Antônio Carlos Vieira Cabral

Subcoordenadora do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher

Prof^a. Alamanda Kfoury Pereira

Gerente da Unidade Funcional de Ginecologia, Obstetrícia e Neonatologia

Prof. Dr. Henrique Vítor Leite

Chefe do Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG

Prof. Dr. Antônio Carlos Vieira Cabral

LOCAL DE REALIZAÇÃO E COORDENAÇÃO DA PESQUISA

Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher

Hospital das Clínicas

Centro de Medicina Fetal (CEMEFE)

Coordenador: Prof. Dr. Antônio Carlos Vieira Cabral

A Deus,
pela saúde e oportunidades.

À minha querida família,
pois só cheguei onde estou
porque eles estavam nos bastidores o tempo todo.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, professora Dr^a. Alamanda Kfoury, por sua dedicação ao ensino e por contribuir para a compreensão das nossas experiências, observações e análise.

Ao Professor Dr. Antônio Carlos Vieira Cabral, por sua dedicação ao conhecimento e à pesquisa. Venho aqui demonstrar minha admiração e meu respeito a todo aprendizado obtido e à maturidade profissional.

À Professora Dr^a. Regina Amélia, por toda a atenção dedicada a mim, ao ensino e ao comprometimento com o exercício profissional e com os pacientes, orgulho-me de tê-la conhecido.

À Professora Zilma Silveira Nogueira Reis, por todo o seu carisma, pelo constante apoio e incentivo em todas as etapas do estudo e principalmente por sua gentil disponibilidade.

Ao Professor Gabriel Costa Ozanan, acima de tudo pela nossa amizade e por abrir-me portas.

Aos alunos Renam Bragança e Carolina Ribeiro, formiguinhas que fizeram a diferença.

A todas as pacientes, meu especial agradecimento, por colaborarem como sujeitos da pesquisa.

RESUMO

A homocisteína (HC) é um aminoácido essencial sulfurado, com papéis múltiplos em alguns processos do crescimento das células e tecidos do corpo humano. Já foi, há anos, identificada como fator de risco independente para doenças vasculares periféricas e cardiovasculares. A descoberta que complicações obstétricas podem estar associadas à hiper-homocisteína (HHCT) na gravidez é mais recente, mas sua influência no período gestacional ainda não está completamente elucidada. Há estudos sugerindo que elevada concentração plasmática de homocisteína materna esteja relacionada ao crescimento intraútero restrito (CIUR). Para testar a hipótese de que existe associação entre a concentração plasmática materna de homocisteína e deficiência de crescimento fetal, foi realizado estudo observacional, transversal, tipo caso-controle, em que foram incluídas 57 gestantes provenientes do ambulatório de pré-natal da maternidade do Hospital das Clínicas da UFMG. Foram constituídos três grupos: o primeiro, de gestantes saudáveis com fetos sem alterações de crescimento; o segundo, composto de gestantes cujos fetos apresentassem CIUR, sem outras anormalidades; e o terceiro grupo, constituído de gestantes cujos fetos apresentassem CIUR e outras anormalidades. Os exames ultrassonográficos e dopplerfluxométricos foram necessários para o diagnóstico de CIUR, comparativamente com a idade gestacional, que foi obtida da data da última menstruação e confirmada com ultrassom (US) de primeira metade da gestação. As concentrações de homocisteína plasmática materna variaram de 2,6 a 14 $\mu\text{mol/L}$. Suas médias foram 7,7 $\mu\text{mol/L}$ para o grupo um, 5,4 $\mu\text{mol/L}$ para o grupo 2 e 7,9 $\mu\text{mol/L}$ para o grupo 3. A concentração média de HC plasmática materna foi significativamente mais baixa no grupo de fetos com CIUR sem centralização ou outras anormalidades, comparados ao grupo-controle. Não houve associação entre as concentrações médias de homocisteína materna do grupo com CIUR e centralização de fluxo/outras anormalidades, comparado com o grupo-controle. A concentração média de HC plasmática materna no grupo que apresentou CIUR e centralização foi significativamente mais alta do que a de HC do grupo com CIUR sem centralização e/ou outras anormalidades, podendo indicar que a hiper-homocisteinemia materna pode ser capaz de promover lesões na microcirculação placentária que caracterizam o CIUR.

Palavras-chave: Homocisteína. Hiper-homocisteína. Gravidez. Crescimento fetal. Crescimento intrauterino restrito.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Aminoácido
BHMT	Betaine homocisteína
CA	Circunferência abdominal
CBS	<i>Cistatione Beta Sintetase</i>
CC	Circunferência cefálica
CEMEFE	Centro de Medicina fetal
CIUR	Crescimento intraútero restrito
Dp	Desvio-padrão
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
HC	Homocisteína
HHCT	Hiper-homocisteína
HPLC	Cromatografia líquida de alta pressão
IMC	Índice de massa corporal
MAT	Metionil- adenosil transferase
MS	<i>Metionine Sintetase</i>
MTHFR	<i>Melilene tetrafolato redutase</i>
PFE	Peso fetal estimado
rpm	Rotações por minuto
THF	<i>Ácido tetrahidrofólico</i>
U/C	Umbilico-cerebral
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
US	Ultrassom

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figuras

FIGURA 1 Representação esquemática do ciclo da homocisteína.....	17
FIGURA 2 Teste de normalidade da variável valor plasmático de homocisteína materna.....	32

Gráfico

GRÁFICO 1 Teste <i>ANOVA</i> para comparação dos valores médios da homocisteína plasmática materna, segundo os três grupos de estudo.....	36
--	----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Características das pacientes de acordo com o grupo de estudo.....	27
TABELA 2 Distribuição das pacientes segundo o uso de suplemento vitamínico (ácido fólico e sulfato ferroso) e grupos de estudo.....	28
TABELA 3 Vícios maternos (tabagismo e etilismo) e grupos de estudo.....	28
TABELA 4 Distribuição das pacientes de acordo com intercorrências clínicas maternas e grupos de estudo.....	29

SUMÁRIO¹

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1 Homocisteína.....	16
2.1.1 Fisiologia e bioquímica.....	16
2.1.2 Fatores determinantes dos níveis de HC.....	17
2.2 CIUR (crescimento intrauterino restrito).....	19
2.2.1 Conceito.....	19
2.2.2 Métodos diagnósticos.....	19
2.3 Homocisteína e gravidez.....	20
2.3.1 Aspectos fisiológicos.....	20
2.3.2 Hiper-homocisteína e gravidez.....	21
2.3.3 Hiper-homocisteinemia e CIUR.....	21
2.3.4 Mecanismo de ação.....	22
3 OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivo geral.....	24
3.2 Objetivos específicos.....	24
4 PACIENTES E MÉTODOS.....	25
4.1 Modelo e local do estudo.....	26
4.2 Pacientes.....	26
4.2.1 Critérios de inclusão.....	29
4.2.2 Critérios de exclusão.....	30
4.3 Métodos.....	30
4.4 Análise estatística.....	32
4.5 Considerações éticas.....	33
5 RESULTADOS.....	34

¹ Este trabalho foi revisado de acordo com as novas regras ortográficas.

6 DISCUSSÃO.....	37
7 CONCLUSÕES.....	44
REFERÊNCIAS.....	46
ANEXO E APÊNDICE.....	50

1 INTRODUÇÃO

O Centro de Medicina Fetal (CEMEFE) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da UFMG, desde 1989, vem desenvolvendo pesquisas com o objetivo de melhor estudar fatores determinantes do crescimento fetal e sua função, além de métodos diagnósticos e terapêuticos mais eficazes, precoces e menos invasivos.

A busca pelo entendimento dos aspectos fisiológicos que ocorrem durante a gestação é, sem dúvida, fundamental para todo o embasamento deste estudo e por propiciar melhor compreensão da gestação normal para tentar aplicá-lo em situações específicas com o intuito de se reduzirem-se as complicações gestacionais.

A regulação do crescimento fetal é complexa e multifatorial e seus distúrbios podem estar relacionados, em muitos casos, a um mau prognóstico da gestação. Sabe-se que condições intrínsecas fetais, maternas e placentárias, bem como endócrinas e ambientais podem levar a alterações no crescimento e desenvolvimento do concepto.

É preciso destacar a relevância da alimentação equilibrada, principalmente no período gestacional, quando se elevam necessidades calóricas, proteicas, de macro e micronutrientes. Em muitos casos, o excesso ou a deficiência de alguns nutrientes pode provocar distúrbios no crescimento fetal, comprometendo o prognóstico da gestação. Como nutricionista, pude me engajar na linha de pesquisa do CEMEFÉ, de fisiologia fetal (uma das linhas de pesquisa do CEMEFÉ do Hospital das Clínicas da UFMG), que busca melhor compreensão da regulação do crescimento intrauterino.

A homocisteína (HC) é um aminoácido essencial sulfurado, com papéis múltiplos em alguns processos do crescimento das células e tecidos do corpo humano. Já foi, há anos, identificada como fator de risco independente para doenças vasculares periféricas e cardiovasculares. A descoberta que complicações obstétricas podem estar associadas à hiper-homocisteína (HHCT) na gravidez é mais recente, mas sua influência no período gestacional ainda não está completamente elucidada. Há vários estudos sugerindo que a HHCT esteja relacionada ao crescimento intraútero restrito (CIUR).

Este é o tema que apresento como um desafio proposto neste estudo.

2 REVISÃO
DA
LITERATURA

2.1 Homocisteína

2.1.1 Fisiologia e bioquímica

A homocisteína (HC) é um aminoácido (AA) sulfurado, indispensável á multiplicação celular, que promove o crescimento das células e tecidos do corpo humano. A única fonte de obtenção de HC é o AA essencial metionina, proveniente das proteínas da dieta, principalmente de origem animal (CALLE *et al.*, 2003).

A HC pode ser obtida por caminhos de trans-sulfuração e transmetilação da metionina. Ela pode ser condensada com o AA serina em uma irreversível reação de sulfuração catalizada pela enzima *cistationa beta sintetase* (CBS), cuja reação requer a presença de piridoxina (vitamina B6) como cofator enzimático, para formar *cistationine*, que então será reduzida para a forma cisteína, que, por sua vez, poderá ser excretada e permitir ao organismo dispor de um componente sulfurado. Alternativamente, a HC pode ser reversivelmente metilada para formar o AA essencial metionina, numa reação catalisada pela enzima *metionina sintetase* (MS), na presença de cobalamina (vitamina B12), como cofator enzimático. O radical metil que é necessário para essa reação é quase todo fornecido pelo metabolismo do *ácido tetrahidrofólico* (THF). Essa reação requer a ação da enzima *metilene tetrafolato redutase* (MTHFR) e a presença de vitamina B6 como cofator, permitindo, portanto, adicional processo de metilação vital para a atividade celular dos organismos vivos (AUBARD; DARODES; CANTALOUBE, 2000; HAGUE, 2003).

Os níveis séricos de HC irão depender da atividade enzimática de CBS, MS e MTHFR e dos indispensáveis cofatores vitaminas B6, B12 e ácido fólico para o perfeito funcionamento e equilíbrio do ciclo metabólico. A FIG. 1 é um desenho esquemático do ciclo metabólico da homocisteína (AUBARD; DARODES; CANTALOUBE, 2000):

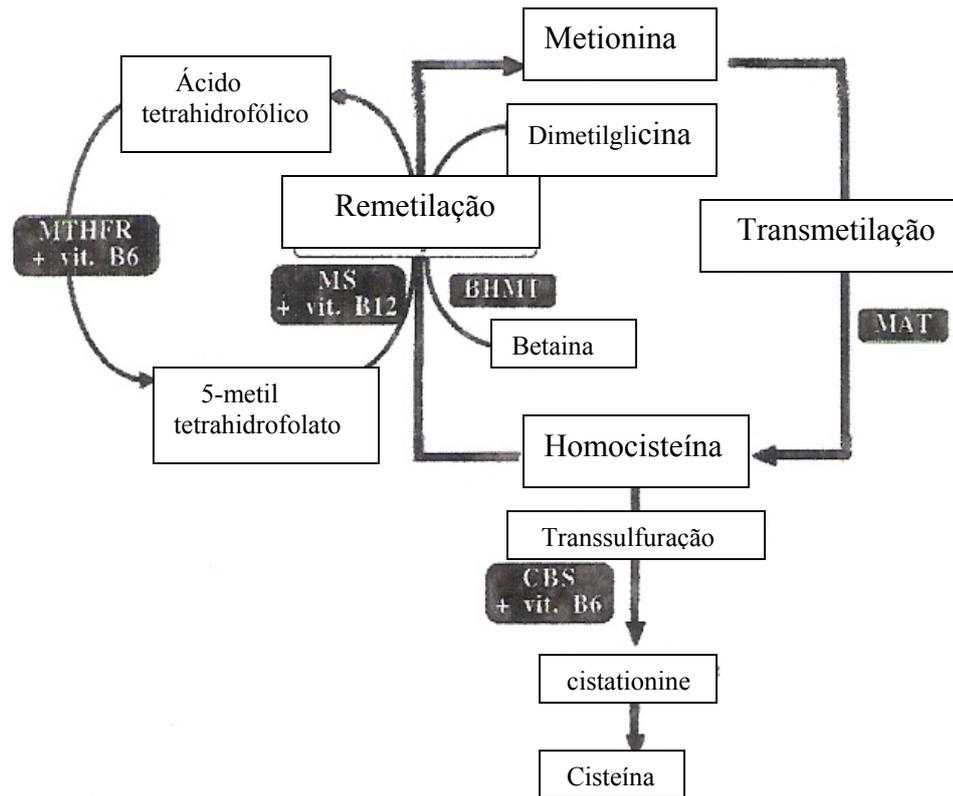


FIGURA 1 - Representação esquemática do ciclo da homocisteína.

MTHFR= Metilene tetra hidrofolato redutase; **MS**= Metionina sintetase; **CBS**= Cistationina β -sintetase; **BHMT**= Betaina homocisteína; **MAT**= Metionil- adenosil transferase.

Adaptado Fonte: Aubard, Darodes e Cantaloube (2000).

2.1.2 Fatores determinantes dos níveis de HC

Vários fatores fisiológicos, metabólicos, dietéticos e ambientais têm sido identificados como importantes modificadores da concentração de homocisteína na circulação (AUBARD; DARODES; CANTALOUBE, 2000; McDONALD; WALKER, 2001; HAGUE, 2003).

Idade, sexo e raça são variantes fisiológicas que podem alterar o valor da HC (ESKES, 2001; HAGUE, 2003). A HC é 30% mais baixa na criança e aumenta progressivamente com a idade e é significativamente mais alta em homens do que em mulheres (AUBARD; DARODES; CANTALOUBE, 2000).

A gravidez normal é também um período fisiológico em que ocorre a diminuição da concentração de HC (HAGUE, 2003; HOGG *et al.*, 2000; POWERS *et al.*, 1998; WALKER *et al.*, 1999).

Insuficiência renal ou disfunções tireoidianas (ESKES, 2001; HAGUE, 2003) como também insuficiência hepática e anemia perniciosa irão promover alterações nos valores da HC.

Um dos principais fatores responsáveis pelo aumento da HC são as alterações das reações enzimáticas de trans-sulfuração e remetilação do ciclo metabólico (AUBARD; DARODES; CANTALOUBE, 2000). Essas modificações podem ocorrer devido a anormalidades dos genes que codificam as enzimas, como, por exemplo, o gene C677T. Este gene codifica a enzima MTHFR (HAGUE, 2003; INFANTE-RIVARD *et al.*, 2003), além de originar polimorfismos e mutações genéticas. Já foram descritas 33 mutações do gene CBS (VAN DER MOLEN *et al.*, 2000; WALKER *et al.*, 1999).

A deficiência dietética de cofatores enzimáticos como as vitaminas B6 (piridoxina), B9 (ácido fólico) e B12 (cianocobalamina) irão alterar a produção de HC e, conseqüentemente, seus níveis sanguíneos. Por este motivo, uma alimentação adequada e equilibrada se torna de muita relevância para manter os níveis de homocisteína adequados (QUÉRÉ *et al.*, 2001).

Alguns fatores ambientais também podem alterar os níveis de homocisteína direta ou indiretamente, por interferir no metabolismo das vitaminas responsáveis pelo ciclo da HC. Alguns medicamentos, como as drogas antagonistas de folato (metotrexato, fenotiazinas, carbamazepina, etc.), antagonistas da vitamina B12 (óxido nítrico), antagonistas da vitamina B6 (teofilina, azarabina), drogas antiepiléticas, anticonvulsivantes, contraceptivos e terapia com estrógeno (HAGUE, 2003) podem aumentar ou diminuir os níveis de HC sanguíneos.

Fumantes apresentam altos níveis de HC quando comparados com não-fumantes e esses níveis aumentam proporcionalmente ao número de cigarros fumados diariamente (McDONALD; WALKER, 2001). O alcoolismo crônico e a atividade física também podem alterar a concentração de HC na circulação (HAGUE, 2003).

2.2 CIUR (crescimento intrauterino restrito)

2.2.1 Conceito

As alterações no crescimento fetal, seja o crescimento intraútero restrito (CIUR) ou a macrossomia, são de extrema gravidade, pela elevada morbimortalidade materna e perinatal (MANNING; HOHLER, 1995). O retardo de crescimento intrauterino refere-se a um subgrupo de recém-nascidos cujo peso se encontra abaixo de um limite arbitrariamente definido para a sua idade, sendo a classificação de Lubchenco a mais empregada. Nos casos em que o peso fetal estimado (PFE) encontra-se abaixo do percentil 10, faz-se o diagnóstico de CIUR (LUBCHENCO *et al.*, 1963).

A incidência do CIUR na gestação é de aproximadamente 7%, chegando a 25% nas gestações de risco (MANNING; HOHLER, 1995).

Os conceitos portadores dessa doença apresentam elevada morbidade fetal e neonatal, sendo estes casos responsáveis por 20% da mortalidade perinatal (CABRAL; DINIZ, 1998).

2.2.2 Métodos diagnósticos

Ultrassonografia: o ultrassom (US) permite realizar o cálculo do PFE baseado em medidas do polo cefálico, abdome e ossos longos. Depois de obtida a estimativa do peso fetal faz-se a comparação com as curvas de normalidade para o peso conforme a idade gestacional (LUBCHENKO *et al.*, 1963), sendo possível verificar o percentil em que se encontra o conceito avaliado. Nos casos em que o peso fetal estimado encontra-se abaixo do percentil 10, faz-se o diagnóstico ultrassonográfico de CIUR. A partir do exame ecográfico, é ainda possível distinguir os tipos simétricos e assimétricos. Sabe-se que no primeiro todas as medidas do feto estão reduzidas, tais como a circunferência cefálica e a abdominal. No tipo assimétrico, há redução de alguns parâmetros biométricos do feto (circunferência abdominal) e preservação de outros (circunferência cefálica e ossos longos) (CABRAL; DINIZ, 1998).

Dopplerfluxometria: outro método de diagnóstico de CIUR é o doppler obstétrico. Por meio do doppler arterial é possível estudar o fluxo vascular nas artérias uterina, umbilical e cerebral média. Avaliam-se, respectivamente, a perfusão placentária, a resistência placentária ao fluxo para o feto e a resposta fetal ao fluxo placentário. É sabido que fetos comprometidos pelo CIUR sofrem o processo denominado “centralização de fluxo”, ou seja, priorizam o aporte sanguíneo para a área cerebral em detrimento da área abdominal. Pelo estudo do fluxo na artéria cerebral média e umbilical, é possível verificar, entre os portadores de CIUR, aqueles que realizam o fenômeno da centralização, representando um processo de compensação hemodinâmica do feto frente à restrição de fluxo placentário (CABRAL, 2005).

2.3 Homocisteína e gravidez

2.3.1 Aspectos fisiológicos

Como já mencionado, a concentração plasmática de HC é geralmente menor em gestantes do que em mulheres não-grávidas, provavelmente como resultado das mudanças fisiológicas e hormonais decorrentes da gravidez (WALKER *et al.*, 1999).

Walker *et al.* (1999), em um dos seus estudos, chegaram a mensurar as mudanças nos níveis de HC durante a gravidez, em que com 8-16 semanas de gestação a concentração era de aproximadamente 5,6 $\mu\text{mL/L}$; com 20-28 semanas de gestação, 4,3 $\mu\text{mL/L}$; e entre 36-42 semanas de gestação, 5,5 $\mu\text{mL/L}$. Eles concluíram que a HC era significativamente mais baixa nos três trimestres da gravidez quando comparada com a de grupos-controle não-grávidos (7,9 $\mu\text{mL/L}$).

Os mecanismos responsáveis por essa diminuição incluem o aumento normal na taxa de filtração glomerular que acompanha a gravidez, o aumento no volume plasmático associado à hemodiluição (HAGUE, 2003), sendo também correlacionados com os níveis de albumina que se encontram diminuídos durante a gravidez (WALKER *et al.*, 1999). Ainda de acordo com Walker *et al.* (1999), os próprios hormônios esteroides ovarianos da gravidez diminuem os níveis de HC circulantes. Uma outra possível explicação para esse fenômeno seria a utilização da HC materna pelo feto (HAGUE, 2003).

2.3.2 Hiper-homocisteína e gravidez

É sabido que a concentração plasmática de HC é um fator de risco independente para doenças vasculares periféricas e para doença arterial coronariana (SALAMANCA 1997; TAVARES; VIEIRA-FILHO; ANDRIOLO, 2002).

Na gravidez, há estudos associando a concentração elevada de HC a complicações como defeitos no tubo neural (OLNEY; MULINARE, 2002), descolamento da placenta, perdas recorrentes, morte fetal, pré-eclâmpsia e crescimento intraútero restrito, com resultados controversos (CALLE *et al.*, 2003; HAGUE, 2003).

2.3.3 Hiper-homocisteinemia e CIUR

Algumas teorias que explicam a etiopatogenia do CIUR concentram-se em lesões nos vasos placentários, as quais os tornam incapazes de fornecer necessidades nutricionais e de oxigênio para o feto (USANDIZAGA, 1997, *apud* CALLE *et al.*, 2003).

Há estudos que correlacionam a hiper-homocisteinemia com doença microvascular placentária. Portanto, o aumento no risco obstétrico de uma gestante hiper-homocisteinêmica pode ser atribuível aos prejuízos vasculares derivados das alterações dos vasos da placenta, com conseqüente infarto e insuficiência placentária (QUESADA *et al.*, 2004, VAN DER MOLLEN *et al.*, 2000).

A hiper-homocisteinemia foi encontrada sendo um significativo fator de risco para baixo peso ao nascimento e menor estatura em recém nascidos, em um estudo realizado em 2009, entre mulheres de Bangladeshi. Neste estudo caso-controle 80 gestantes foram inscritas, das quais 30 apresentaram casos de CIUR enquanto 50 apresentaram apropriado peso fetal para a idade gestacional. A homocisteína materna colhida no 3º trimestre gestacional foi significativamente maior nos casos de CIUR do que nos controles. Os bebês nascidos de gestantes com restrição de crescimento fetal tiveram uma significativa redução no seu peso e na sua estatura ao nascimento (SHIRIN *et al.*, 2009).

2.3.4 Mecanismo de ação

Os mecanismos de alteração dos vasos sanguíneos associados à HHCT ainda são imperfeitamente conhecidos, mas acredita-se que ela age diretamente na parede do vaso sanguíneo, causando mudanças no endotélio (ESKES, 2001).

As lesões podem resultar diretamente da auto-oxidação dos resíduos tiol da molécula de HC, peroxidação, liberando íons peróxidos capazes de provocar alterações na estrutura e metabolismo celular, e de funções das células endoteliais (AUBARD; DARODES; CANTALOUBE, 2000), além de ativarem a cascata de coagulação.

Entre as muitas hipóteses para a ação aterosclerótica da HC, é mais aceita a da dupla ação demonstrada, que promove o crescimento das células de músculo liso dos vasos sanguíneos enquanto inibem o crescimento das células endoteliais (STEEHOUWER; JAKOBS, 1998, *apud* ESKES, 2001).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Este estudo teve por objetivo estabelecer associação entre a concentração de homocisteína materna e padrões de crescimento intrauterino restrito.

3.2 Objetivos específicos

- Verificar se há diferença na concentração plasmática de homocisteína materna de gestantes cujos fetos apresentem CIUR, comparando-se à de gestantes cujos fetos não apresentem distúrbios de crescimento.
- Verificar se existe diferença entre os níveis plasmáticos de homocisteína materna de gestantes cujos fetos apresentem CIUR com centralização de fluxo, comparando-os àqueles com CIUR sem centralização de fluxo.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Modelo e local do estudo

Para testar a hipótese de que existe associação entre os níveis plasmáticos maternos de homocisteína e deficiência de crescimento fetal, foi realizado estudo observacional, transversal, tipo caso-controle.

As pacientes foram selecionadas entre a população de gestantes atendidas na Maternidade do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), durante o período de agosto de 2005 a dezembro de 2008.

4.2 Pacientes

Foram incluídas 57 gestantes provenientes do ambulatório de pré-natal da Maternidade do Hospital das Clínicas da UFMG, que apresentavam os critérios de inclusão e que aceitaram participar deste estudo. Foram constituídos três grupos: o primeiro, de gestantes saudáveis com fetos sem alterações de crescimento; o segundo, composto de gestantes cujos fetos apresentassem CIUR, sem outras anormalidades; e o terceiro grupo, constituído de gestantes cujos fetos que apresentassem CIUR e outras anormalidades (oligohidrânio e diástole zero).

A TAB. 1 mostra as características das pacientes segundo o grupo de estudo.

TABELA 1

Características das pacientes de acordo com o grupo de estudo

Variáveis	Grupos de estudo	N	Média ± dp	Amplitude	p
Idade materna (anos)	1	33	25,9 ± 5,6	18,0 – 42,0	0,427
	2	12	26,3 ± 6,4	18,0 – 43,0	0,427
	3	11	28,7 ± 7,1	18,0 – 43,0	0,427
IMC materno inicial (Kg/m ²)	1	28	23,8 ± 3,0	19,4 - 33,0	0,178
	2	11	22,3 ± 4,9	16,3 - 34,2	0,178
	3	8	21,5 ± 2,8	16,9 - 26,1	0,178
Idade gestacional ao US (semanas)	1	34	32,4 ± 5,6	21,0 - 39,0	0,537
	2	12	30,7 ± 3,6	24,0 - 36,0	0,537
	3	10	28,3 ± 4,0	21,0 - 33,0	0,537
Peso fetal estimado ao US (g)	1	32	2178 ± 978	392 - 3709	0,011
	2	10	1521 ± 578	624 - 2396	0,011
	3	8	1244 ± 498	428 - 1990	0,011

dp = desvio-padrão (Teste *One-Way*-Anova)

De acordo com a análise estatística (*One-way* ANOVA), pode-se observar que os grupos foram homogêneos quanto à idade materna ($p=0,427$), índice de massa corporal (IMC) materno ($p=0,178$) e idade gestacional corrigida por ultrassom de primeira metade ($p=0,537$).

Nas TAB. 2, 3 e 4 avaliaram-se outras características das pacientes, de acordo com o grupo de estudo.

Em relação ao uso de vitaminas, verificou-se que houve associação entre fazer uso de suplementação de vitaminas (ácido fólico e sulfato ferroso) e fetos que não apresentaram CIUR, como demonstrado na TAB. 2.

TABELA 2

Distribuição das pacientes segundo o uso de suplemento vitamínico
(ácido fólico e sulfato ferroso) e grupos de estudo

Grupos	Sim	Não	Total
1	33	1	34
2	9	3	12
3	7	4	11
Total	49	8	57

(p= 0,010) Teste qui-quadrado

A associação de vícios (tabagismo e etilismo) entre gestantes e fetos que desenvolveram CIUR enfatizou associação positiva entre a ocorrência de vícios maternos e a frequência de CIUR (TAB. 3).

TABELA 3

Vícios maternos (tabagismo e etilismo) e grupos de estudo

Grupos	Sim	Não	Total
1	1	33	34
2	5	7	12
3	5	6	11
Total	11	46	57

(p= 0,001) Teste qui-quadrado

De acordo com a TAB. 4, os grupos foram distribuídos quanto às intercorrências clínicas maternas (hipertensão, diabetes, cardiopatia). Essas intercorrências estiveram presentes com mais frequência nos grupos 2 e 3.

TABELA 4
 Distribuição das pacientes de acordo com
 intercorrências clínicas maternas (diabetes, hipertensão, cardiopatia)
 e grupos de estudo

Grupos	Sim	Não	Total
1	2	32	34
2	5	7	12
3	6	5	11
Total	13	44	57

(p= 0,001) Teste qui-quadrado

4.2.1 Critérios de inclusão

Foram definidos os seguintes critérios de inclusão no estudo:

- Paciente com idade acima de 18 anos;
- aceitação livre de participação no estudo, por meio de consentimento livre e informado (APÊNDICE A) aprovado pela comissão de ética;
- Gestação no terceiro trimestre, avaliado por exame ecográfico realizado na primeira metade da gestação.
- Ausência de fatores que sabidamente poderiam interferir, direta ou indiretamente, nos níveis circulantes de HC ou no potencial intrínseco de crescimento fetal, como uso de medicamentos que não a suplementação de vitaminas da gravidez (corticoides, ciclosporina, metrotexate, trimetropim, fenitoína), gemelaridade e malformações fetais.

Grupo 1: controle – constituído por gestantes cujos fetos não apresentavam quaisquer sinais ultrassonográficos de alterações no crescimento fetal:

- a) Mãe saudável, sem doenças intercorrentes na gestação;
- b) ausência de sinais de anormalidades no crescimento fetal: peso estimado ao ultrassom entre o percentil 10 e 90 pela curva proposta por Lubchenko *et al.* (1963) e volume de líquido amniótico normal.

Grupo 2: caso – CIUR sem centralização, composto de gestantes cujos fetos apresentavam diagnóstico de CIUR ao ultrassom, dado pelos seguintes critérios:

- a) Peso estimado abaixo do percentil 10 da curva proposta por Lubchenko *et al.* (1963);
- b) relações biométricas alteradas: relação circunferência cefálica/ circunferência abdominal (CC/CA) acima de 1 (CAMPBELL; THOMS, 1977);
- c) ausência de sinais de centralização de fluxo – índice umbilico-cerebral (U/C) < 1;
- d) ausência de outras anormalidades (oligoidrâmnio, diástole zero).

Grupo 3: caso – CIUR com centralização, composto de gestantes cujos fetos apresentavam sinais ultrassonográficos de CIUR e centralização de fluxo ao doppler, dado pelos seguintes critérios:

- a) Peso estimado abaixo do percentil 10 da curva proposta por Lubchenko *et al.* (1963);
- b) relações biométricas alteradas: relação CC/CA acima de 1 (CAMPBELL; THOMS, 1977);
- c) centralização de fluxo – índice U/C ≥ 1 e/ou outras anormalidades (oligoidrâmnio, diástole zero).

4.2.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos os casos nos quais as pacientes não possuíam ultrassom da primeira metade da gestação.

4.3 Métodos

As gestantes foram acompanhadas no Centro de Medicina Fetal do Hospital das Clínicas da UFMG (CEMEFE) de acordo com a necessidade e a especificidade de cada caso.

Métodos de imagem: a ultrassonografia e a dopplerfluxometria foram realizadas por examinador experiente do CEMEF, pelo aparelho Sonoace 8.000 EX *Prime - Medison*.

A idade gestacional foi obtida com base na data da última menstruação e confirmada em US de primeira metade da gravidez.

Foi realizada a biometria fetal por ultrassonografia, incluindo a relação entre os segmentos do feto. Baseando-se na biometria, calculou-se o peso fetal, definindo-se como CIUR valor abaixo do percentil 10 pela curva de crescimento de Lubchenco *et al.* (1963).

Avaliaram-se também o volume de líquido amniótico, as características da placenta e o perfil biofísico fetal. A presença de oligodrâmnio foi considerada complicação, incluindo-se o caso no grupo 3.

A dopplerfluxometria foi realizada durante o exame ultrassonográfico, em todos os casos de CIUR. Identificaram-se as artérias umbilical e cerebral média pelo ultrassom. Uma vez identificados esses vasos, insonou-se o doppler, para obterem-se ondas homogêneas. Essas imagens foram congeladas e, então, medidos os respectivos índices de pulsatilidade. Foi considerado centralizado quando a relação entre os índices de pulsatilidade da artéria umbilical e cerebral média foi superior a um. O doppler de artéria umbilical alterado ou diástole zero foi considerado uma complicação, definindo-se o caso no grupo 3.

Dosagem plasmática da homocisteína materna: uma amostra com cerca de 5 mL de sangue materno foi obtida por punção da veia antecubital, com a paciente na posição sentada, sem jejum prévio.

O sangue foi coletado após antissepsia no local da punção, realizada com álcool 70%, em sistema Vacutainer estéril, empregando-se dois tubos contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). Após a coleta, o sangue foi prestamente encaminhado ao laboratório de Medicina Fetal, onde o plasma foi separado por centrifugação, em um prazo de até 30 minutos após a coleta, empregando-se a velocidade de 4.000 rotações por minuto (rpm) – 4.000 x 100 G, por 10 minutos. A seguir, o plasma obtido foi pipetado, empregando-se ponteiras descartáveis, em alíquotas semelhantes, com aproximadamente 1,5 mL cada, em dois tubos de polietileno (duplicata), tipo *Eppendorf*, com 2 mL de capacidade. Esses tubos pré-identificados foram armazenados em container de nitrogênio líquido, a -80°C, até o momento do ensaio laboratorial.

Níveis plasmáticos normais de homocisteína encontram-se entre 4 e 12 μmol (INSTITUTO DE PATOLOGIA CLÍNICA HERMES PARDINI, 2000).

As dosagens de homocisteína foram realizadas em ensaio único pela técnica de cromatografia líquida de alta pressão (HPLC).

4.4 Análise estatística

A análise estatística foi realizada no programa Minitab-® *Release 14 – Statical Software*.

O teste de normalidade da variável valor plasmático da homocisteína materna foi feito para saber se a curva possuía distribuição normal.

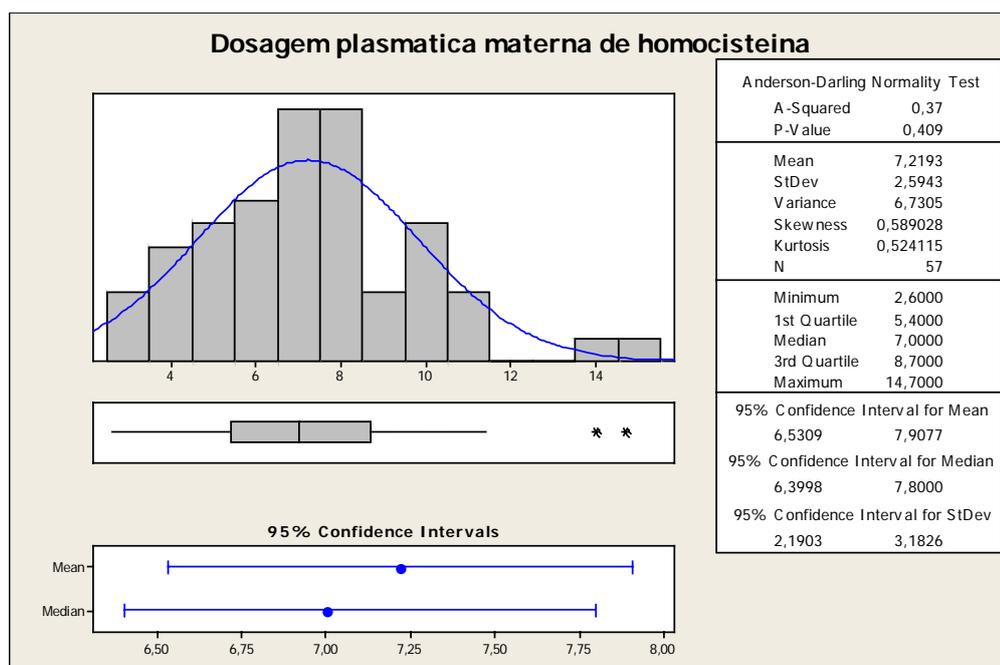


FIGURA 2 - Teste de normalidade da variável valor plasmático de homocisteína materna.

Interpretação: a variável tem distribuição normal.

Todos os resultados foram considerados significativos em um nível de significância de 5% ($p < 0,05$), tendo, portanto, 95% de confiabilidade de que estejam corretos.

Os testes utilizados neste estudo, segundo a necessidade, foram: teste *One-way* ANOVA para comparação de variáveis contínuas em mais de dois grupos, teste do qui-quadrado para as variáveis que são categóricas, discretas e teste - t para comparação de 2 médias.

4.5 Considerações éticas

O termo de consentimento livre e informado aprovado previamente pelo Comitê de Ética da instituição foi obtido de cada paciente, antes da coleta do material.

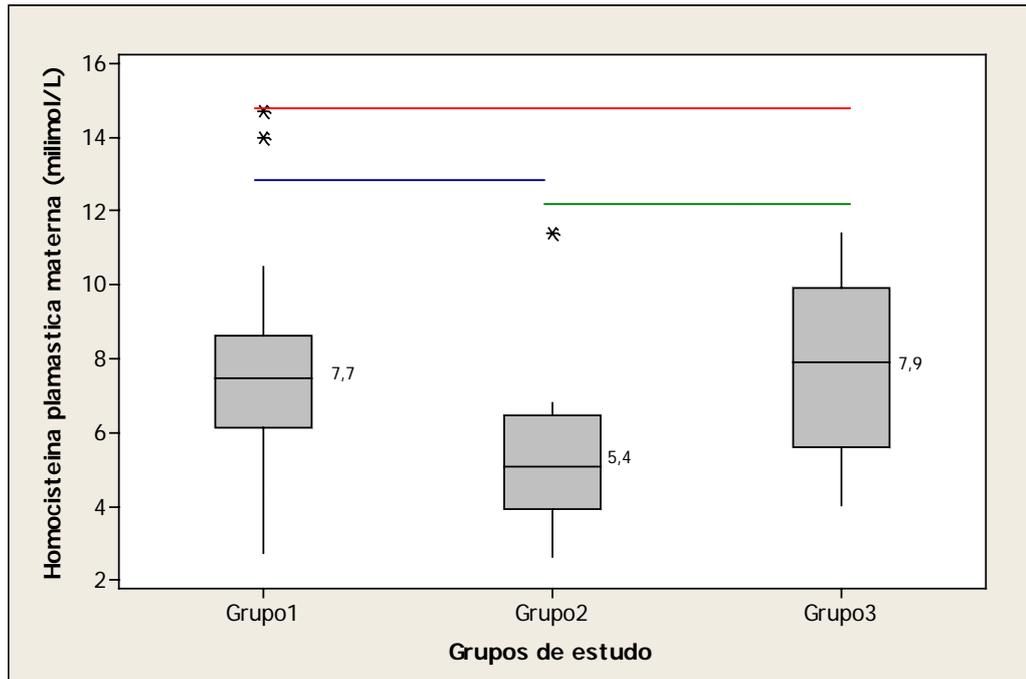
5 RESULTADOS

Neste estudo transversal, tipo caso-controle, procurou-se associar a hiper-homocisteinemia materna com a ocorrência de CIUR. A pesquisa consistiu de 57 pacientes distribuídas em 34 no grupo 1, 12 no grupo 2 e 11 no grupo 3.

Da população estudada, 34 gestantes (60%) não tiveram fetos com retardo de crescimento intrauterino (grupo 1). Das demais 23 gestantes (40%), 12 apresentaram CIUR sem outras anormalidades (grupo 2) e 11 (19%) CIUR com centralização de fluxo e/ou outras anormalidades.

As concentrações de homocisteína plasmática materna variaram de 2,6 a 14 $\mu\text{mol/L}$. Suas médias foram 7,7 $\mu\text{mol/L}$ para o grupo 1; 5,4 $\mu\text{mol/L}$ para o grupo 2; e 7,9 $\mu\text{mol/L}$ para o grupo 3.

No GRÁF. 1 compararam-se as concentrações médias de HC plasmáticas maternas entre os três grupos. Utilizando-se o teste *One Way* ANOVA, observou-se significativa associação entre os grupos 1, 2 e 3 ($p=0,002$). Entretanto, não houve associação estatisticamente significativa entre o grupo 1 (controle) e o grupo 3 (CIUR com outras anormalidades) ($p= 0,774$).



Legenda: _____ (p=0,77), _____ (p=0,002), _____ (p=0,003)

GRÁFICO 1 - Teste ANOVA para comparação dos valores médios da homocisteína plasmática materna, segundo os três grupos de estudo.

Entre o grupo 2 (CIUR com relação U/C normal) e o grupo 3 (CIUR com relação U/C alterado) verificou-se associação significativa e positiva (p=0,003).

O menor valor médio de HC plasmática materna foi encontrada no grupo 2 (CIUR sem centralização de fluxo fetal) e o mais elevado, no grupo 3 (CIUR, com centralização de fluxo fetal).

6 DISCUSSÃO

A regulação do crescimento fetal é complexa e multifatorial e seus distúrbios estão relacionados, em muitos casos, a mau prognóstico da gestação. Sabe-se que condições intrínsecas fetais, maternas e placentárias, bem como endócrinas e ambientais podem levar a alterações no crescimento e desenvolvimento do concepto.

As alterações no crescimento fetal, seja o crescimento intraútero restrito (CIUR) ou a macrossomia, são de extrema gravidade, pela elevada morbimortalidade materna e perinatal. O retardo de crescimento intrauterino refere-se a um subgrupo de recém-nascidos cujo peso se encontra abaixo de um limite arbitrariamente definido para a sua idade, sendo a classificação de Lubchenco *et al.* a mais empregada. Nos casos em que o peso fetal estimado (PFE) encontra-se abaixo do percentil 10, estabelece-se o diagnóstico de CIUR. Sua incidência na gestação é de aproximadamente 7%, chegando a 25% nas gestações de risco.

O feto humano possui inerentes e notáveis processos de adaptação pelos quais pode compensar as consequências da redução do seu potencial de crescimento, destacando-se a capacidade de distribuição do débito cardíaco para áreas nobres como o cérebro e o coração, em detrimento da estrutura, pulmão, intestino e rins (MARI; DETER, 1992). Essas alterações podem ser detectadas durante a vida intrauterina por meio do estudo dopplerfluxométrico das artérias cerebrais e dos vasos umbilicais, denominadas centralização de fluxo. Também as relações entre a circunferência abdominal e outras medidas como a circunferência cefálica são indicativos de desnutrição fetal intraútero e utilizadas no diagnóstico do crescimento intrauterino restrito (CAMPBELL; THOMS, 1977).

A homocisteína, um aminoácido sulfurado necessário para o crescimento das células e tecidos do corpo humano e derivado do AA essencial metionina, têm sido muito bem descrita na literatura, onde seu nível plasmático elevado é ressaltado como fator de risco para doenças cardiovasculares. Vários fatores fisiológicos, metabólicos, dietéticos e ambientais são descritos como importantes modificadores da sua concentração. A relação entre hiper-homocisteinemia materna e complicações obstétricas é mais recente e ainda imperfeitamente elucidada, necessitando-se determinar o valor desse novo fator de risco obstétrico.

Níveis aumentados de homocisteína na gestação têm sido associados à restrição de crescimento intrauterino (HOGG *et al.*, 2000; LEEDA *et al.*, 1998; VOLLSET *et al.*, 2000), defeitos no tubo neural e a várias condições caracterizadas por vasculopatia placentária, como pré-eclâmpsia, abrupção, recorrente perda da gravidez e morte fetal (AUBARD; DARODES; CANTALOUBE, 2000; HAGUE, 2003; HOGG *et al.*, 2000).

A hiper-homocisteinemia pode estar associada à doença microvascular placentária. Portanto, o aumento no risco obstétrico de uma gestante hiper-homocisteinêmica pode ser atribuído aos prejuízos vasculares derivados das alterações dos vasos da placenta, com consequente infarto e insuficiência placentária.

Num esforço de melhor compreender o papel da homocisteína na gestação e sua relação com o crescimento fetal, realizou-se este estudo do tipo observacional, transversal, caso-controle (grupo 1 - controle; e grupos 2 e 3 - caso), no qual foram incluídas 57 gestantes.

Os grupos apresentaram-se homogêneos quanto a: idade materna, idade gestacional, IMC materno e idade gestacional corrigida por ultrassom de primeira metade. Mas não foram homogêneos quanto ao peso fetal estimado e quanto aos valores de homocisteína plasmática materna.

O não-uso da suplementação de vitaminas associou-se positivamente a fetos que apresentaram CIUR, indicando possível efeito protetor e modulador do ácido fólico e outras vitaminas no metabolismo da homocisteína.

A presença de doenças preexistentes ou que se manifestaram na gestação, como hipertensão, pré-eclâmpsia, cardiopatia ou diabetes, correlacionou-se, também, com o retardo de crescimento intrauterino. Essas doenças apresentam em comum o fato de serem crônicas, degenerativas e, por algum mecanismo, afetam todo o sistema vascular e, conseqüentemente, o placentário, favorecendo disfunções endoteliais e, assim, contribuindo para o CIUR. Fato este já consolidado na literatura.

Outra associação significativa encontrada neste estudo foi entre vícios maternos, como tabagismo e etilismo, e o CIUR. A primeira evidência de que fumar durante a gestação diminui o peso ao nascimento emerge de três décadas atrás. Recém-nascidos de gestantes

que fumaram pesam, em média, 200 g a menos que os nascidos de mães que não fumaram. Níveis de homocisteína, se elevados em grávidas que fumam, podem aumentar o risco de retardo de crescimento fetal.

O objetivo deste estudo foi avaliar a existência de associação entre a concentração plasmática de HC materna e a ocorrência de CIUR. Os resultados obtidos mostram associação significativa entre as médias da concentração plasmática de homocisteína do grupo 1 - controle (7,7 $\mu\text{mol/L}$) com a média do grupo 2 - CIUR sem centralização (5,4 $\mu\text{mol/L}$). Isso significa que a média de HC do grupo de gestantes saudáveis foi mais alta do que a média de HC do grupo de gestantes com fetos com CIUR sem outras anormalidades ($p=0,002$). Este resultado aparentemente é o inverso do que se esperava.

Neste trabalho nenhuma diferença significativa foi constatada entre a média da concentração plasmática de HC do grupo-controle (7,7 $\mu\text{mol/L}$) com a média do grupo 3 (CIUR com outras alterações) (7,9 $\mu\text{mol/L}$), ou seja, a média de HC dos grupos de gestantes com conceitos com crescimento normal foi semelhante à do grupo 3, correspondendo ao grupo mais grave ($p=0,774$).

Estes resultados estão de acordo com as experiências de D'Anna *et al.* (2004), Hietala, Turpeinein e Laatikainen (2001), Hogg *et al.* (2000) e Burke *et al.* (1992). Burke *et al.* (1992) foram os primeiros a estudar a associação entre HHCT e CIUR. Eles avaliaram a média de peso de 30 recém-nascidos de gestantes que apresentavam HHCT por alterações genéticas, isto é, eram heterozigotas para a mutação do gene CBS. Os recém-natos pesaram, em média, 3.408 ± 774 g, mostrando que não havia tendência a CIUR nesse grupo de pacientes.

Os níveis de HC plasmática em grupos de fetos com CIUR foram comparados aos do grupo-controle por D'Anna *et al.* (2004). A média dos níveis de homocisteína plasmática do grupo-controle e dos grupos com CIUR, na 16ª semana de gestação, foram similares - $5,60 \pm 1,11$ $\mu\text{mol/L}$ e $5,85 \pm 1,08$ $\mu\text{mol/L}$, respectivamente, sem diferença significativa entre os grupos ($p= 0,20$). Ao medir a HC no parto, a média de HC plasmática continuou sem diferença significativa entre os grupos controle e com CIUR - $6,32 \pm 1,65$ $\mu\text{mol/L}$ e $6,81 \pm 1,82$ $\mu\text{mol/L}$ ($p= 0,07$), respectivamente.

Hogg *et al.* (2000) avaliaram, do segundo para o terceiro trimestre, níveis de HC no plasma de 22 gestantes que subsequentemente desenvolveram CIUR. Também em sua investigação não referiram diferenças nos níveis de HC plasmática quando comparados com grupos-controle nesse mesmo período gestacional. Uma possível explicação poderia ser que no retardo de crescimento intrauterino, as alterações endoteliais estão limitadas à circulação útero-placentária, sendo insuficientes para modificar os níveis plasmáticos de HC materno.

Um dado interessante que chamou a atenção no resultado deste estudo foi que, apesar do grupo de gestantes com CIUR com centralização de fluxo fetal e/ou outras anormalidades (grupo 3) não apresentar correlação com o grupo-controle (grupo 1), a média de HC plasmática desse mesmo grupo foi significativamente mais elevada (7,9 $\mu\text{mol/L}$) que a média do grupo de gestantes com retardo de crescimento intrauterino sem centralização de fluxo fetal - 5,4 $\mu\text{mol/L}$ (grupo 2) ($p=0,003$). Ou seja, 19% das pacientes apresentaram CIUR por insuficiência placentária. Esse grupo constituiu-se de lesões vasculares na placenta suficientes para alterar os níveis de HC materna. Poderia ser a homocisteína um marcador de CIUR por insuficiência placentária vascular?

A partir deste achado pôde-se inferir que esta pesquisa apresentou tendência ao aumento da HC plasmática no grupo de fetos com CIUR e centralização de fluxo, quando comparados com fetos com CIUR sem outras alterações.

Alguns autores, como Cotter *et al.* (2001), salientam associação entre pré-eclâmpsia e hiper-homocisteinemia. A concentração de HC no plasma materno é significativamente diminuída na gestação e uma das possíveis explicações para esse fato pode ser o consumo de HC materna. Provavelmente, na pré-eclâmpsia, como na HHCT, os danos placentários evitam que o feto utilize a HC da mãe e, por conseguinte, o nível plasmático permanece similar ao de mulheres não-grávidas e mais alto quando comparado com CIUR sem sinais de insuficiência placentária (MALINOW *et al.*, 1998; RAIJMAKERS *et al.*, 2001).

Goddijn-Wessel *et al.* (1996) assinalaram HHCT em 26 das 84 pacientes holandesas (31%) que apresentaram descolamento e infartos placentário e retardo de crescimento fetal – tudo em combinação com vasculopatia placentária – e em 9% dos 46 controles.

Por outro lado, outros autores encontraram associação entre HHCT e CIUR. No estudo de Dekker *et al.* (1995), foi relatada prevalência de 17,7% de HHCT em gestantes com CIUR, enquanto De Vries *et al.* (1997) mencionaram em torno de 24% de hiper-homocisteinemia em suas pacientes. Leeda *et al.* (1998) descreveram a incidência de HHCT em gestantes com CIUR como sendo sete vezes mais que na população normal. Em seu estudo com 181 mulheres com história de pré-eclâmpsia, 32 (17,7%) tinham teste anormal de sobrecarga de metionina e das 26 com história de CIUR, cinco (19,2%) também tinham esse teste anormal.

Importante ressaltar que os resultados ainda permanecem conflitantes, pois alguns autores têm detectado associação entre HHCT e CIUR e outros não. Os níveis de homocisteína no plasma materno não parecem ser um teste preditivo confiável para esse diagnóstico, sendo necessário, ainda, determinar o exato valor desse novo fator de risco obstétrico.

Mas, diferenças e limitações podem ter interferido nos resultados e análise deste estudo quando em comparação com outros. Alguns fatores podem ser possíveis vieses, como o não-jejum antes da coleta de sangue, o armazenamento em nitrogênio líquido à temperatura de -80°C e o tempo em que as amostras de sangue ficaram condicionadas. Em algumas pesquisas, o jejum se fazia necessário e o armazenamento era em até -20°C ou em *freezers* comuns (-8°C). Também em relação à técnica de dosagem empregada, como a HPLC, *kits* e calibragem do aparelho devem ser considerados, pois outros pesquisadores utilizaram o teste de carga de metionina oral (0,1 g/Kg de peso), que era dosado após seis horas de sua ingestão (VAN DER GRIEND *et al.*, 1998).

Diante destes achados, propõe-se que outros estudos sejam realizados para esclarecer o comportamento fisiológico da HC durante uma gestação normal. Ou que se realizem trabalhos científicos com a técnica de dosagem padronizada ou com o armazenamento diferente do proposto nesta pesquisa.

Na medida em que sua função no desenvolvimento gestacional for mais compreendida, novas revelações provavelmente emergirão quanto ao seu papel no crescimento fetal.

A avaliação desses fatores em condições normais e patogênicas poderá acrescentar mais esclarecimentos para a Medicina Fetal e determinar ou não a relevância da HC na gestação humana.

7 CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados, pôde-se concluir que:

- A concentração média de HC plasmática materna foi significativamente mais baixa no grupo de fetos com CIUR sem centralização ou outras anormalidades, comparados ao grupo-controle.
- Não houve associação entre as concentrações médias de homocisteína materna do grupo com CIUR e centralização de fluxo/outras anormalidades, comparados com o grupo-controle.
- A concentração média de HC plasmática materna do grupo que apresentou CIUR e centralização foi significativamente mais alta do que a concentração de HC do grupo com CIUR sem centralização e/ou outras anormalidades, podendo indicar que a hiper-homocisteinemia materna pode ser capaz de promover lesões na microcirculação placentária que caracterizam o CIUR.

REFERÊNCIAS

AUBARD, Y.; DARODES, N.; CANTALOUBE, M. Hyperhomocysteinemia and pregnancy: review of four present understanding and therapeutic implications. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, France, v. 93: p. 157-165, 2000.

BURKE, G. *et al.* Intrauterine growth retardation, perinatal death, and maternal homocysteine levels. **New England Journal Medicine**, v. 326: p. 69-70, 1992.

CABRAL, A.C.V. **Medicina fetal: o feto como paciente**. Belo Horizonte: Coopmed, 2005.

CABRAL, A.C.V.; DINIZ, S.S.A. **Obstetrícia**. Belo Horizonte: Gente, p. 319, 1988.

CALLE, M. *et al.* Homocysteine, folic acid and B-groups vitamins in obstetrics and gynaecology. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, Madrid, v. 107: p. 125-134, 2003.

CAMPBELL, S.; THOMS, A. Ultrasound measurement of the fetal head to abdomen circumference ratio in the assessment of growth retardation. **British Journal Obstetric & Gynaecology**, v. 84, n. 3: p. 165–174, 1977 Mar, 1977.

COTTER, A. *et al.* Elevated plasma homocysteine in early pregnancy: A risk factor for the development of severe preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v.185, n.4: p.781-785, Oct, 2001.

DÀNNA, R. *et al.* Plasma homocysteine in early and late pregnancies complicated with preeclampsia and isolated intrauterine growth restriction. **Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica**, Italy, v. 83: p. 155-158, 2004.

DEKKER, G.A. *et al.* Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 173: p. 1042-1048, 1995.

DE VRIES J.I.P. *et al.* Hyperhomocysteinemia and protein S deficiency in complicated pregnancies. **British Journal Obstetric & Gynaecology**, v. 104: p. 1248-1254, 1997.

ESKES, K.A.B.T. Clotting disorders and placental abruption: homocysteine: a new risk factor. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 95: p. 206-212, 2001.

GODDIJN-WESSEL, T.A.W. *et al.* Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with severe early –onset preeclampsia. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 66: p. 23-29, 1996.

HAGUE, W.M. Homocysteine and pregnancy. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, v. 17, n. 3: p 459-469, 2003.

HIETALA, R.; TURPEINEIN, U.; LAATIKAINEN, T. Serum homocysteine at 16 weeks and subsequent preeclampsia. **Obstetrics & Gynaecology**, v. 97: p. 527-529, 2001.

HOGG, B. *et al.* Second-trimester plasma homocysteine levels and pregnancy-induced hypertension, preeclampsia, and intrauterine growth restriction. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 183, n. 4: p. 805-809, Oct., 2000.

INFANTE-RIVARD, C. *et al.* Relación inesperada entre homocisteína em plasma y restricción del crecimiento intrauterino. **Clinical Chemistry**, Canadá, v. 49, n. 9: p. 1476-1482, 2003.

INSTITUTO DE PATOLOGIA CLÍNICA HERMES PARDINI. **Manual de exames**, 2000.

LEEDA, M. *et al.* Effects of folic acid and vitamin B6 supplementation on women with hyperhomocysteinemia and a history of preeclampsia or fetal growth restriction. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 179, n. 1: p. 135-139, July, 1998.

LUBCHENKO, L.O. *et al.* Intrauterine weight chart. **Pediatrics**, v. 11: p. 793, 1963.

MALINOW, M.R. *et al.* The relationship between maternal and neonatal umbilical cord plasma homocysteine suggest a potential role for maternal homocysteine in fetal metabolism. **Obstetrics & Gynaecology**, v. 178: p. 228-233, 1998.

MANNING, F.A.; HOHLER, C. **Intrauterine growth retardation**: diagnosis, prognostication, and management based on ultrasound methods. The principles and practice of ultrasonography in obstetrics and gynecology. Appleton & Lange, p. 331-358, 1995.

MARI, G.; DETER, R.L. Middle cerebral artery flow velocity waveforms in normal and small-for-gestational-age fetuses. **American Journal Obstetrics and Gynecology**, v. 166: pp. 1262-1270, 1992.

McDONALD, S.D.; WALKER, M.C. Homocysteine levels in pregnant women who smoke cigarettes. **Medical Hypotheses**, Canadá, v. 57, n. 6: p. 792-796, 2001.

OLNEY, R.S.; MULINARE, J. Trends in neural tube defect prevalence, folic acid fortification, and vitamin supplement use. **Seminars in perinatology**, v. 26, n. 24: p. 277-285, August, 2002.

POWERS, R. *et al.* Plasma homocysteine concentration is increased in preeclampsia and is associated with evidence of endothelial activation. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 179, n. 6: p. 1605-1611, dec., 1998.

QUÉRÉ, I. *et al.* Vitamin supplementation and pregnancy outcome in women with recurrent early pregnancy loss and hyperhomocysteinemia. **Fertility and Sterility**, v. 75, n. 4: p. 823-825, April, 2001.

QUESADA, E.L. *et al.* Perinatal outcome prediction by maternal homocysteine and uterine artery Doppler velocimetry. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, Barcelona, v. 113: p. 61-66, 2004.

RAIJMAKERS, M.Y.M. *et al.* Hyperhomocysteinemia: a risk factor for preeclampsia? **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 95: p. 226-228, 2001.

SALAMANCA, G.F. Nuevos factores de riesgo para las enfermedades cardiovasculares. **Gac M,d. M,x**, v. 133, n. 5: p. 481-482, oct, 1997.

SHIRIN, F. *et al.* Effect of gestational homocystein on fetal growth in Bangladeshi women. **Ibrahim Medical College Journal**, v. 3, n.1: p. 13-16, 2009.

TAVARES, E.F.; VIEIRA-FILHO, J.P.B.; ANDRIOLO, A. Relação da homocisteinemia com a sensibilidade da insulina e com fatores de risco cardiovascular em um grupo indígena brasileiro. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v. 46, n. 3: p. 261-268, junho, 2002.

VAN DER MOLEN, E.F. *et al.* A common mutation in the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene as new risk factor for placental vasculopathy. **American Journal of Obstetric Gynecology**, v. 182: p. 1258-1263, 2000.

VAN DER GRIEND, R. *et al.* Methionine loading test is necessary for detection of hyperhomocysteinemia. **Journal Laboratory Clinical Medicine**, v. 132: p. 67-72, 1998.

VOLLSET, S.E. *et al.* Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: the hordal and homocysteine study. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 71: p. 962-968, 2000.

WALKER, M.C. *et al.* Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. **American Journal of Obstetric Gynecology**, Canadá, v. 180, n. 3: p. 660-664, Mar, 1999.

ANEXO E APÊNDICE

Anexo A – Parecer ético

Apêndice A – Termo de consentimento livre e esclarecido