

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**PATRÍCIA NESSRALLA ALPOIM**

**PRÉ-ECLÂMPSIA: AVALIAÇÃO DE FATOR VIII,  
FATOR DE von WILLEBRAND E ADAMTS-13 E DO  
GRUPO SANGUÍNEO ABO**

**Belo Horizonte - MG**

**2010**

**PATRÍCIA NESSRALLA ALPOIM**

**PRÉ-ECLÂMPسيا: AVALIAÇÃO DE FATOR VIII,  
FATOR DE von WILLEBRAND E ADAMTS-13 E DO  
GRUPO SANGUÍNEO ABO**

Dissertação, como requisito parcial, para obter o grau de mestre em Ciências Farmacêuticas, submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luci Maria Sant'Ana Dusse

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Karina Braga Gomes Borges

**Belo Horizonte - MG**

**2010**

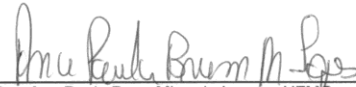
## FOLHA DE APROVAÇÃO

**PATRICIA NESSRALLA ALPOIM**

**"Pré-eclâmpsia: Avaliação de fator VIII, von Willebrand e ADAMTS-13 e do grupo sanguíneo ABO"**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação, em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

### COMISSÃO EXAMINADORA



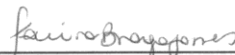
---

Dra. Ana Paula Brum Miranda Lopes - UFMG



---

Profa. Dra. Ana Paula Salles Moura Fernandes - UFMG



---

Profa. Dra. Karina Braga Gomes - UFMG



---

Profa. Dra. Luci Maria Sant'Ana Dusse - UFMG

Belo Horizonte, 29 de junho de 2010

*Dedico este trabalho a Deus que me guia para o lugar e o momento certo.  
Aos meus pais que sempre dedicaram suas vidas para que eu chegasse aqui.  
Ao meu irmão, Thiago, pela amizade e companheirismo  
Aos meus avôs, Miguel, Ilka e Didi pelo exemplo de vida.  
Aos familiares e amigos, colaboradores em todos os momentos.*

## AGRADECIMENTOS

À professora e orientadora Luci Maria Sant'Ana Dusse, pelos ensinamentos, exemplo de competência, confiança, paciência, amizade e contribuição para meu crescimento acadêmico.

À Professora e co-orientadora Karina Braga Gomes Borges, pela preocupação, compromisso, e enorme contribuição em todas as etapas da execução desse trabalho.

À Professora Maria das Graças Carvalho, pela colaboração e disponibilidade sempre imediata.

À Prof<sup>a</sup> Ana Paula Sales Moura Fernandes, pela disponibilidade do laboratório de Biologia Molecular e pela colaboração.

À Lara, pela parceria nas coletas, ajuda científica, amizade e incentivo para a execução desse estudo.

Aos amigos do laboratório de Hematologia, Fátima, Márcio, Dannyelle, Letícia, Mirelle e Ludmila, pela imprescindível e importante ajuda nos testes laboratoriais.

Às equipes da Obstetrícia e da Enfermagem da Maternidade Odete Valadares/Belo Horizonte e da Maternidade do Hospital Público Regional de Betim, em especial à Marcilene, à Dr<sup>a</sup> Juliane Petterson e à enfermeira Alessandra Maciel que sempre estiveram atentas em comunicar-me o aparecimento de gestantes com pré-eclâmpsia grave.

Aos profissionais do laboratório da Maternidade Odete Valadares e do laboratório da Uai Guanabara/Betim que durante suas rotinas de trabalho me ajudaram com dedicação e paciência.

Às técnicas em enfermagem da Unidade Básica de Saúde da Família Guanabara/Betim pela ajuda e participação na coleta das amostras de sangue das gestantes normotensas e mulheres não gestantes.

À gerente da Uai Guanabara/Betim, Carla Regina, pela compreensão e pela minha liberação por algumas horas para fazer as coletas de sangue das participantes deste estudo e para a conclusão da escrita da dissertação.

Ao amigo e companheiro de trabalho, Fernando, pela compreensão, paciência e resolução das tarefas na farmácia da Uai Guanabara nos momentos de minha ausência.

Ao Marquinhos, pela ajuda, companheirismo e torcida durante toda minha caminhada e paciência na coleta de sangue das gestantes, inclusive nos finais de semana.

Ao professor Armando da Silva Cunha Júnior do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da UFMG, pela disponibilidade e atenção constantes, além do empenho e contribuição para a qualidade do curso.

Aos funcionários, Eduardo e Ludimila, da secretaria da Pós-Graduação da Faculdade de Farmácia da UFMG, pela gentileza e serviços prestados.

Às gestantes, que mesmo abordadas em um momento tão delicado, não se esquivaram de dar sua preciosa e efetiva ajuda para a realização deste estudo.

Às mulheres não gestantes que contribuíram voluntariamente com este estudo.

Aos professores da Faculdade de Farmácia, e em especial aos professores do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, pelos ensinamentos.

A Roberta e Flávia, pela orientação na análise estatística.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização e finalização deste estudo, muito obrigada!

*“O segredo do sucesso é a constância de propósito”*

**Benjamim Disraeli**

## RESUMO

A pré-eclâmpsia (PE) pura caracteriza-se pelo aparecimento, em gestantes normotensas, após a vigésima semana de gestação de hipertensão e proteinúria. A etiologia da PE ainda não é conhecida. Sua incidência é de aproximadamente 10% nas primigestas e essa doença é responsável por elevada morbiletalidade perinatal. O estado de hipercoagulabilidade, fisiológico da gravidez normal, é ainda mais acentuado na PE. Sabe-se que o grupo sanguíneo ABO está relacionado à ocorrência de eventos trombóticos, uma vez que indivíduos do grupo “não O” (A, B e AB) apresentam níveis aumentados de F VIII e de FvW em relação a indivíduos do grupo O. A ADAMTS-13 é a enzima responsável pela regulação dos níveis plasmáticos de FvW. O objetivo do estudo foi avaliar a relação da atividade de F VIII, dos níveis plasmáticos de FvW e de ADAMTS-13 e do grupo sanguíneo ABO e a ocorrência de PE grave. Foram avaliadas 160 mulheres, das quais 60 eram gestantes com PE grave (grupo I), 50 gestantes normotensas (grupo II) e 50 mulheres não gestantes (grupo III). As gestantes dos grupos I e II foram segregadas em dois subgrupos, com idade gestacional (IG)  $\geq 29$  semanas e IG  $< 29$  semanas, para avaliação dos parâmetros hemostáticos. Foram avaliados a atividade de F VIII, os níveis plasmáticos de FvW e de ADAMTS-13 e a frequência do grupo sanguíneo ABO. Para as gestantes com IG  $\geq 29$  semanas, o F VIII e o FvW foram significativamente aumentados no grupo I em relação ao II ( $p=0,01$  e  $p=0,05$ , respectivamente). A ADAMTS-13 foi significativamente menor no grupo I em relação ao grupo II ( $p=0,02$ ). A comparação dos grupos I e III revelou um aumento de F VIII e FvW no grupo I ( $p=0,00$ , em ambos os casos) e uma diminuição de ADAMTS-13 ( $p=0,00$ ). Comparando-se os grupos II e III, foram observados um aumento de F VIII e de FvW no grupo II ( $p=0,00$  em ambos os casos) e uma diminuição de ADAMTS-13 ( $p=0,00$ ). A comparação da frequência dos grupos sanguíneos entre as gestantes com PE grave e normotensas, não mostrou diferença ( $p=0,69$ ;  $p=1,00$ ;  $p=0,78$  e  $p=0,73$ , para os grupos O, A, B e AB, respectivamente). A atividade de F VIII e os níveis plasmáticos de FvW mostraram-se diminuídos nas mulheres do grupo sanguíneo O em relação àquelas do grupo “não O” ( $p=0,01$  e  $p=0,00$ , respectivamente). Os níveis plasmáticos de ADAMTS-13 não foram diferentes comparando-se os grupos sanguíneos O e “não O” ( $p=0,13$ ). Não foram encontradas diferenças significativas, comparando fenótipos sanguíneos O e “não O”, para F VIII, FvW e ADAMTS-13 nos grupos I e II (IG  $\geq 29$  semanas e IG  $< 29$  semanas). Para o grupo III observou-se aumento significativo de F VIII e FvW nas mulheres do grupo “não-O” em relação às do grupo O e não foi obtida diferença para ADAMTS-13. A fim de avaliar a associação dos parâmetros clínicos, hemostáticos e sistema ABO com o desenvolvimento da PE, foi realizada uma análise de regressão multivariada, considerando a presença e ausência de PE como variável dependente. Os resultados encontrados para os parâmetros hemostáticos foram: F VIII (OR=4,02 IC=1,53-10,55  $p=0,01$ ), FvW (OR=3,88 IC=1,45-10,39  $p=0,01$ ) e ADAMTS-13 (OR=8,77 IC=2,40-32,06  $p=0,00$ ). Estes resultados revelam um estado de hipercoagulabilidade na PE que pode ser devido ao aumento dos níveis de FvW e da atividade de F VIII. Os níveis de ADAMTS-13 estão reduzidos nesta doença e o tipo sanguíneo não está relacionado à ocorrência da mesma.

**PALAVRAS-CHAVE:** Pré-eclâmpsia; fator VIII; fator de von Willebrand; ADAMTS-13; grupo sanguíneo ABO.



## ABSTRACT

Pre-eclampsia (PE) pure is characterized by hypertension and proteinuria in normotensive pregnant women after the 20<sup>a</sup> week of gestation. The etiology of the PE is not yet known. Its incidence is approximately 10% in primigravidae and this is responsible for high fetal morbidity. The physiological hypercoagulable state in normal pregnancy is even higher in PE. It is known that the ABO blood group is related to the occurrence of thrombotic events, since "non O" (A, B and AB) individuals have increased F VIII and vWF levels comparing to O. ADAMTS-13 is the enzyme responsible for regulating the vWF plasma levels. The aim of this study was to evaluate the activity of F VIII, vWF and ADAMTS-13 plasma levels and ABO blood group with the occurrence of severe PE. It was evaluated 160 women; group I: 60 severe preeclamptic women group II: 50 normotensive pregnant women and group III: 50 non-pregnant women. Pregnancies in groups I and II were divided into two subgroups, with gestational age (GA)≥29 weeks and GA<29 weeks for hemostatic parameters evaluation. It was evaluated the activity of F VIII, vWF and ADAMTS-13 plasma levels and the frequency of ABO blood group. For pregnant women with gestational age≥29 weeks, F VIII and vWF were significantly increased in group I compared to II (P=0.01 and P=0.05, respectively). ADAMTS-13 was significantly lower in group I than in group II (P=0.02). The comparison of groups I and III showed an increase in F VIII and vWF in group I (P=0.00 in both cases) and a decrease of ADAMTS-13 (P=0.00). Comparing groups II and III, were observed an increase in F VIII and vWF in group II (P=0.00 in both cases) and a decrease of ADAMTS-13 (P=0.00). The frequency of blood groups among pregnant women with severe PE and normotensive, showed no difference (P=0.69, P=1.00, P=0.78 and P=0.73 for the groups O, A, B and AB, respectively). The activity of F VIII and plasma levels of vWF showed a decreased in women of blood group O compared to those of the group "non O" (P=0.01 and P=0.00, respectively). Plasma levels of ADAMTS-13 were not different comparing the blood group O and "non O" (P=0.13). No difference was found comparing the blood phenotypes O and "non O" for F VIII, vWF and ADAMTS-13 in groups I and II (GA≥29 weeks and GA<29 weeks). For group III there was a significant increase of F VIII and vWF among "non-O" women comparing to those O. No difference was obtained for ADAMTS-13. To verify the association of clinical, haemostatic and ABO system with the development of the PE, a multivariate regression analysis was made, considering the presence and absence of PE as the dependent variable. The results for haemostatic parameters were: F VIII (OR= 4.02 CI= 1.53-10.55 P= 0.01), vWF (OR= 3.88 CI= 1.45-10.39 P= 0.01) and ADAMTS-13 (OR= 8.77 CI= 2.40-32.06 P= 0.00). These results suggest that a hypercoagulability state is present in PE and it may be resulting from the increased levels of vWF and F VIII activity. ADAMTS-13 levels are reduced in this disease and ABO blood group is not related to its occurrence.

**Key words: Preeclampsia, F VIII, vWF, ADAMTS-13, ABO blood group.**

## LISTA DE FIGURAS

<b>1</b>	<b>Iniciação da coagulação (Adaptado de Hoffman &amp; Monroe, 2006).....</b>	<b>27</b>
<b>2</b>	<b>Amplificação da coagulação (Adaptado de Hoffman &amp; Monroe, 2006).....</b>	<b>28</b>
<b>3</b>	<b>Propagação da coagulação (Adaptado de Hoffman &amp; Monroe, 2006). ....</b>	<b>29</b>
<b>4</b>	<b>Mecanismo de ação da ADAMTS-13 em condições normais e formação de grumos de plaquetas na ausência desta enzima .....</b>	<b>33</b>
<b>5</b>	<b>Mediana e intervalo interquartil da idade das integrantes dos grupos I, II e III. ....</b>	<b>53</b>
<b>6</b>	<b>Mediana e intervalo interquartil da idade gestacional das integrantes dos grupos I e II. ....</b>	<b>54</b>
<b>7</b>	<b>Mediana e intervalo interquartil dos valores de pressão arterial (PA) sistólica (mmHg) nos grupos I, II e III. ....</b>	<b>55</b>
<b>8</b>	<b>Mediana e intervalo interquartil dos valores de pressão arterial (PA) diastólica (mmHg) nos grupos I, II e III. ....</b>	<b>55</b>
<b>9</b>	<b>Mediana e intervalo interquartil da atividade de F VIII (%) nos grupos I e II (IG<math>\geq</math>29 semanas) e III.....</b>	<b>58</b>
<b>10</b>	<b>Mediana e intervalo interquartil dos valores plasmáticos de FvW (mU/mL) nos grupos I e II (IG<math>\geq</math>29 semanas) e III.....</b>	<b>59</b>
<b>11</b>	<b>Mediana e intervalo interquartil dos valores plasmáticos de ADAMTS-13 (ng/mL) nos grupos I e II (IG<math>\geq</math>29 semanas) e III. ....</b>	<b>59</b>
<b>12</b>	<b>Mediana e intervalo interquartil da atividade de F VIII (%) nos grupos I e II (IG<math>&lt;</math>29 semanas) e III.....</b>	<b>61</b>
<b>13</b>	<b>Mediana e intervalo interquartil dos valores plasmáticos de FvW (mU/mL) nos grupos I e II (IG<math>&lt;</math>29 semanas) e III.....</b>	<b>62</b>
<b>14</b>	<b>Mediana e intervalo interquartil dos valores plasmáticos de ADAMTS-13 (ng/mL) nos grupos I e II (IG<math>&lt;</math>29 semanas) e III. ....</b>	<b>62</b>
<b>15</b>	<b>Distribuição dos grupos sanguíneos nas integrantes dos grupos I, II e III .....</b>	<b>64</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>1</b>	<b>Características clínicas das participantes do estudo.....</b>	<b>52</b>
<b>2</b>	<b>Parâmetros laboratoriais das gestantes com PE grave (grupo I, n=60) .....</b>	<b>56</b>
<b>3</b>	<b>Parâmetros hemostáticos obtidos para os grupos I e II (IG<math>\geq</math>29 semanas) e III.....</b>	<b>58</b>
<b>4</b>	<b>Parâmetros hemostáticos obtidos para os grupos I e II (IG&lt;29 semanas) e III. ....</b>	<b>61</b>
<b>5</b>	<b>Frequência dos grupos sanguíneos do sistema ABO nos grupos I, II e III. ....</b>	<b>63</b>
<b>6</b>	<b>Parâmetros hemostáticos avaliados nas integrantes dos grupos sanguíneos O e “não O”..</b>	<b>65</b>
<b>7</b>	<b>Parâmetros hemostáticos das integrantes dos grupos I e II (IG<math>\geq</math>29 semanas) e III, segundo o grupo sanguíneo O e “não O”. ....</b>	<b>66</b>
<b>8</b>	<b>Parâmetros hemostáticos das integrantes dos grupos I e II (IG&lt;29 semanas), segundo o grupo sanguíneo O e “não O”. ....</b>	<b>67</b>
<b>9</b>	<b>Análise univariada, considerando PE grave como variável dependente .....</b>	<b>68</b>
<b>10</b>	<b>Modelo de regressão logística múltipla, considerando como variável dependente PE grave. ....</b>	<b>69</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADAMTS-13	<i>A disintegrin and metalloprotease with eight thrombospondin-1-like domains</i>
ADP	Adenosina difostato
ALT	Alanina amino transferase
AST	Aspartato amino transferase
AT	Antitrombina
CID	Coagulação intravascular disseminada
CIUR	Crescimento intra-uterino restrito
DPP	Descolamento prematuro de placenta
ELISA	<i>Enzyme linked imune assay</i>
EPCR	Receptor endotelial de proteína C
F IX	Fator IX
F IXa	Fator IX ativado
F V	Fator V
F Va	Fator V ativado
F VII	Fator VII
F VIIa	Fator VII ativado
F VIII	Fator VIII
F VIIIa	Fator VIII ativado
F X	Fator X
F Xa	Fator X ativado
F XI	Fator XI
F XIa	Fator XI ativado
F XII	Fator XII
F XIIa	Fator XII ativado
F XIII	Fator XIII
F1+2	Fragmento 1+2 da protrombina
FPA	Fibrinopeptídeo A
FPB	Fibrinopeptídeo B
FT	Fator tissular

FVL	Fator V Leiden
FvW	Fator von Willebrand
FXIIIa	Fator XIII ativado
HELLP	<i>Hemolysis elevated liver enzymes, and low platelet</i>
IMC	Índice de massa corpórea
LDH	Desidrogenase láctica
MP	Micropartículas
MTHFR	Metilenoetetraidrofolato redutase
OR	<i>Odds ratio</i>
PA	Pressão arterial
PAI-1	Inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1
PC	Proteína C
PCa	Proteína C ativada
PDF	Produtos de degradação da fibrina
PE	Pré-eclâmpsia
PS	Proteína S
TAFI	Inibidor da fibrinólise ativado pela trombina
TAT	Complexo trombina-antitrombina
TFPI	Inibidor da via do fator tissular
TM	Trombomodulina
TP	Tempo de protrombina
t-PA	Ativador tecidual do plasminogênio
TTPa	Tempo de tromboplastina parcial ativada
u-PA	Ativador do plasminogênio tipo uroquinase

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E RELEVÂNCIA.....	15
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1	Pré-eclâmpsia .....	19
2.2	Hemostasia.....	24
2.2.1	<u>Hemostasia primária.....</u>	24
2.2.2	<u>Hemostasia secundária.....</u>	25
2.2.3	<u>Hemostasia terciária ou fibrinólise .....</u>	30
2.2.4	<u>Mecanismos reguladores da coagulação sanguínea .....</u>	31
2.3	Fator de von Willebrand (FvW) e ADAMTS-13.....	32
2.4	Grupo sanguíneo ABO .....	34
2.5	Fator VIII, fator de von Willebrand (FvW) e grupo sanguíneo ABO.....	36
2.6	Aspectos hemostáticos da gravidez e da PE .....	37
2.7	Grupo sanguíneo ABO e PE .....	39
3	OBJETIVOS .....	42
3.1	Objetivo geral.....	43
3.2	Objetivos específicos .....	43
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	44
4.1	Casuística.....	45
4.1.1	<u>Aspectos éticos .....</u>	45
4.1.2	<u>Seleção das integrantes do estudo.....</u>	45
4.2	Amostra biológica.....	46
4.3	Métodos .....	47
4.3.1	<u>Avaliação da coagulação .....</u>	47
4.3.2	<u>Fenotipagem do grupo sanguíneo ABO .....</u>	49
4.4	Análise estatística .....	50

<b>5</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>51</b>
<b>5.1</b>	<b>Características clínicas dos grupos avaliados .....</b>	<b>52</b>
<b>5.2</b>	<b>Avaliação dos parâmetros laboratoriais das gestantes com PE grave ...</b>	<b>56</b>
<b>5.3</b>	<b>Avaliação de parâmetros hemostáticos .....</b>	<b>57</b>
<b>5.4</b>	<b>Frequência do grupo sanguíneo ABO nas integrantes do estudo .....</b>	<b>63</b>
<b>5.4.1</b>	<b><u>Relação do grupo sanguíneo ABO e dos parâmetros hemostáticos .....</u></b>	<b>64</b>
<b>5.4.2</b>	<b><u>Análise multivariada dos parâmetros clínicos, hemostáticos e sistema ABO.....</u></b>	<b>68</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>70</b>
<b>6.1</b>	<b>Considerações gerais.....</b>	<b>71</b>
<b>6.2</b>	<b>Características clínicas dos grupos avaliados .....</b>	<b>72</b>
<b>6.3</b>	<b>Parâmetros hematológicos e bioquímicos.....</b>	<b>74</b>
<b>6.4</b>	<b>Parâmetros hemostáticos .....</b>	<b>76</b>
<b>6.5</b>	<b>Grupo sanguíneo ABO .....</b>	<b>80</b>
<b>6.6</b>	<b>Perspectivas de estudos futuros .....</b>	<b>82</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>83</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>85</b>
	<b>ANEXO A - Termo de aprovação pelo COEP/UFMG .....</b>	<b>99</b>
	<b>ANEXO B - Declaração de aprovação pelo HPRB .....</b>	<b>100</b>
	<b>ANEXO C - Parecer de aprovação pelo NEP/MOV .....</b>	<b>101</b>
	<b>ANEXO D - Declaração de aprovação pela gerência da UBSF Guanabara .....</b>	<b>102</b>
	<b>ANEXO E - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....</b>	<b>103</b>
	<b>ANEXO F - Fichas clínicas dos grupos I, II e III .....</b>	<b>104</b>

# ***1INTRODUÇÃO E RELEVÂNCIA***



A pré-eclâmpsia (PE), na forma pura, é caracterizada pelo aparecimento, em gestante normotensa de hipertensão e proteinúria, após a vigésima semana de gestação.

A PE é uma doença incurável, exceto pela interrupção da gravidez. De acordo com dados do Ministério da Saúde (2006), a PE incide em cerca de 10% das primigestas e é responsável por elevada morbiletalidade perinatal (5-20%), constituindo uma das principais doenças responsáveis pela morte materna.

Outras síndromes hipertensivas podem ocorrer durante a gestação e incluem a hipertensão arterial crônica (de qualquer etiologia), a PE superposta à hipertensão arterial crônica e a hipertensão transitória.

Clinicamente é importante distinguir a forma grave da PE, onde a sintomatologia clínica é ainda mais acentuada. A forma grave pode evoluir para outras manifestações clínicas mais sérias como a eclâmpsia, a síndrome HELLP (*Hemolysis elevated liver enzymes, and low platelet*) e a coagulação intravascular disseminada (CID).

A gravidez normal está associada a complexas alterações da hemostasia que resultam em um estado de hipercoagulabilidade sanguínea. Considerando-se que o fluxo placentário em um embrião de sete semanas é de cerca de 50mL/minuto e em um feto a termo é de 800-1000mL/minuto e, considerando-se ainda que esse aporte sanguíneo é bruscamente interrompido no momento do parto, é razoável admitir que as modificações do sistema hemostático que ocorrem ao longo da gravidez visem uma ação eficaz na zona de inserção placentária no momento do parto de modo a prevenir uma hemorragia excessiva.

O estado de hipercoagulabilidade, fisiológico da gravidez, é ainda mais exacerbado na PE. Nessa doença tem sido verificada a formação aumentada de fibrina que pode levar à oclusão da luz de vasos, especialmente uteroplacentários e renais, com conseqüente surgimento de áreas isquêmicas.

A distribuição do grupo sanguíneo ABO em gestantes com PE, visando determinar se há maior frequência de um determinado grupo sanguíneo em mulheres que manifestam a doença, tem sido amplamente estudado. No entanto, as conclusões desses estudos são conflitantes.

Uma associação do grupo sanguíneo ABO e ocorrência de eventos trombóticos tem sido descrita na literatura. Os indivíduos dos grupos sanguíneos “não O”, ou seja A, B e O, apresentam níveis plasmáticos elevados de F VIII e de

FvW em relação àqueles do grupo O. O FvW é o carreador do F VIII no plasma e o mecanismo de regulação dos seus níveis plasmáticos envolve a enzima ADAMTS-13.

Apesar de inúmeros estudos e a despeito da gravidade da PE, sua etiologia ainda não foi elucidada. A principal motivação para realização deste estudo foi esclarecer a relação do grupo sanguíneo ABO e a atividade de F VIII e níveis plasmáticos de FvW e de ADAMTS-13 nessa doença.

Uma grande limitação aos estudos referentes à PE é representada pela dificuldade do seu diagnóstico. O sucesso do diagnóstico clínico da PE depende essencialmente do cuidado com que se procura obtê-lo. Assim, é fundamental uma anamnese bem feita, visando encontrar qualquer evidência na história pregressa da paciente de fatos que possam sugerir uma lesão renal primária, bem como um exame clínico-laboratorial rigoroso, valorizando não somente os critérios para o diagnóstico de PE, mas também incluindo uma completa avaliação da função renal.

No presente estudo, a segurança do diagnóstico correto dos casos de PE é grande, uma vez que tanto na Maternidade Odete Valadares, como na Maternidade do Hospital Público Regional de Betim, onde as gestantes foram selecionadas, os critérios de inclusão e exclusão foram rigidamente seguidos, eliminando todos os casos duvidosos.

Cumpramos ressaltar que nenhum marcador laboratorial que apresente a relação custo-efetividade favorável foi proposto nas últimas décadas para o diagnóstico da PE, sendo esse feito essencialmente com base nos dados clínicos, medida da pressão arterial e determinação da proteinúria.

Considerando a dificuldade diagnóstica da PE, a complexidade da mesma, bem como as lacunas existentes na literatura, este estudo se justifica plenamente podendo gerar conhecimentos que resultem em benefícios para o diagnóstico e prognóstico dessa doença, bem como para o entendimento da fisiopatologia da mesma.

***2 REVISÃO DA LITERATURA***

## 2.1 Pré-eclâmpsia

A pré-eclâmpsia (PE), na forma pura, caracteriza-se por hipertensão e proteinúria. O aparecimento dessas manifestações em grávida normotensa, após a vigésima semana, levam a suspeitar dessa doença. Esses sinais, em geral, são os primeiros a se manifestar (CARTY *et al.*, 2008).

A PE incide em cerca de 10% das primigestas (Ministério da saúde - Manual do puerpério 2006) e é responsável por elevada morbiletalidade perinatal (5-20%). Gestantes não primigestas, mas com gestação de outro parceiro também apresentam risco elevado de desenvolver a doença. Além disso, mulheres com história de PE em gestações anteriores ou aquelas que apresentam história da ocorrência de PE em parentes de primeiro grau também apresentam risco elevado de desenvolvimento da doença. A história de PE na avó paterna também confere risco aumentado do aparecimento da doença. Diversos fatores estão associados ao risco de desenvolvimento da PE como história familiar e pessoal da doença; primeira gravidez; mudança de parceiro; extremos da idade materna (menos que 20 anos e mais que 35 anos); diabetes mellitus; hipertensão crônica; síndrome metabólica; doença renal; gestação múltipla; mola hidatiforme; alterações trombofílicas (REZENDE *et al.*, 2005; YOUNG *et al.*, 2010).

A PE, a infecção puerperal e as síndromes hemorrágicas da gravidez constituem as três principais doenças responsáveis pela morte materna no decurso do ciclo puerperal (CARTY *et al.*, 2008).

Para o diagnóstico da PE a hipertensão é o sinal mais importante e ocorre em 100% dos casos. Considera-se como limite da normalidade tensional os valores de 140x90mmHg para as pressões sistólica e diastólica, respectivamente. Entretanto, em casos limítrofes, é necessário conhecer a pressão arterial anterior, admitindo-se que elevações de 30mmHg na sistólica e 15mmHg na diastólica representam elementos indicadores de hipertensão. Assim, a elevação tensional de 90x60 para 130x80, mesmo não atingindo o limite de 140x90, deve ser considerada anormal. Para fins diagnósticos, deve-se dar maior valor à pressão diastólica pois, por ser mais estável, não se altera em outras condições clínicas em que ocorre hipertensão sistólica (REZENDE *et al.*, 2005).

Vários fatores têm sido sugeridos para explicar o edema no decurso de gestações aparentemente normais. Dentre eles, os fatores hormonais, queda da

pressão osmótica do plasma, aumento da pressão capilar e venosa e da permeabilidade dos capilares. Sob influência isolada ou concomitante desses elementos, ocorre retenção hídrica no espaço intersticial. Em condições anormais, há um grande aumento ponderal na gestação que, enquanto não se exterioriza por edema evidente, tem o nome de edema oculto. Essa condição determina manifestações de formigamento das mãos, distensão da pele ao nível das pernas, cansaço fácil e deformação mais ou menos visível do nariz. Costuma-se classificar o edema em graus, que em escala ascendente atinge os membros inferiores até a tíbia (+); estende-se às coxas e também aos membros superiores (++); alastra-se a todo o corpo excluindo as cavidades serosas (+++) e, finalmente, constitui o edema generalizado ou anasarca (++++) (REZENDE *et al.*, 2005). Historicamente, o edema faz parte da tríade sintomática da PE (hipertensão, proteinúria e edema). No entanto, o edema é muito inespecífico para ser utilizado como propósito de diagnóstico, considerando que gestantes sem PE podem desenvolvê-lo durante a gestação (YOUNG *et al.*, 2010).

A proteinúria é um evento frequente e sua detecção na PE ocorre, geralmente, após o aparecimento da hipertensão. Para sua avaliação é importante considerar tanto as variações individuais como a circadiana. Como limite clínico, é aceitável que gestantes normotensas possam apresentar proteinúria de até 0,3g por 24 horas. Morgan & Thurnau (1988), admitiram que a proteinúria pode estar ausente na forma leve da doença mas, com o agravamento dessa, torna-se detectável. A hipertensão e a proteinúria são os elementos fundamentais para a identificação da PE (REZENDE *et al.*, 2005).

Do ponto de vista da evolução, distingue-se a PE que se desenvolve em gestante normotensa daquela que se instala em paciente com quadro hipertensivo anterior. O primeiro caso denomina-se PE pura e o segundo PE sobreposta (REZENDE *et al.*, 2005).

Clinicamente é importante distinguir a forma grave da PE onde a sintomatologia clínica é mais acentuada. Dentre os sintomas destacam-se a cefaléia intensa, distúrbios visuais, edema pulmonar, falência renal aguda com oligúria  $\leq 500\text{mL}$  em 24 horas. A PE grave pode evoluir para outras manifestações clínicas mais sérias como a eclâmpsia, a síndrome HELLP (*Hemolysis elevated liver enzymes, and low platelet*) e a coagulação intravascular disseminada (CID).

Os parâmetros para diagnóstico da forma grave da PE consistem em:

Hipertensão: pressão sanguínea sistólica  $\geq 160$ mmHg ou pressão sanguínea diastólica  $\geq 110$ mmHg em, no mínimo, duas ocasiões. O intervalo entre as medições não deve ser inferior a seis horas ou superior a uma semana.

Proteinúria: excreção de proteína  $\geq 2$ g em urina de 24 horas ou  $\geq +2$  pelo método semi-quantitativo de fita, em amostras isoladas (coletadas em intervalo mínimo de 4 horas) (CUNNINGHAM *et al.*, 2000)

A eclâmpsia é caracterizada por convulsões tônico-clônicas generalizadas e ocorre em cerca de 2% das gestantes com PE grave. Os movimentos convulsivos geralmente começam ao redor da boca na forma de espasmos faciais. Após alguns segundos, todo o corpo torna-se rígido em uma contração muscular generalizada (CUNNINGHAM *et al.*, 2000). A grande maioria das pacientes com eclâmpsia apresenta, antes das convulsões, hipertensão, proteinúria, náuseas, vômitos, hiperreflexia, edema cerebral, cefaléia intensa, alterações mentais (YOUNG *et al.*, 2010). O diagnóstico de eclâmpsia é feito quando a gestante manifesta sinais e sintomas de PE e ausência de história de desordens convulsivas. Assim como a PE, a patogênese da eclâmpsia ainda é desconhecida, porém vários dos achados clínicos da eclâmpsia também são vistos na PE grave, confirmando que fazem parte de um mesmo processo patológico (CUNNINGHAM *et al.*, 2000). A eclâmpsia pode ocorrer imediatamente após o parto ou, menos frequentemente, de 48 horas até um mês pós-parto. Um terço ou mais das mulheres que apresentaram eclâmpsia pós-parto não manifestaram sinais ou sintomas de PE durante a gestação (YOUNG *et al.*, 2010).

A síndrome HELLP ocorre em aproximadamente 10-20% dos casos de PE grave e em 70% dos casos surge entre as 27<sup>a</sup> e 37<sup>a</sup> semanas de gestação (GEARY, 1997; MAGANN *et al.*, 1999). No período pós parto, a síndrome HELLP geralmente ocorre nas primeiras 48 horas, em mulheres que apresentaram proteinúria e hipertensão durante a gestação (HARAM *et al.*, 2009; SIBAI *et al.*, 1993). Um ganho de peso excessivo e edema generalizado precedem a síndrome HELLP em mais de 50% dos casos (SIBAI, 1990). Os sinais clínicos típicos dessa síndrome são epigastralgia, náuseas e vômitos. No entanto, 30% a 60% das mulheres manifestam cefaléia e 20% alterações visuais (SIBAI, 2004). A hemólise, uma das principais características dessa desordem, ocorre devido à anemia hemolítica microangiopática, na qual as hemácias são lisadas ao passarem por depósitos de fibrina formados para tamponar lesões do endotélio vascular. Tal fato é responsável

pelo aumento plasmático de desidrogenase láctica (LDH) e da bilirrubina indireta nessas pacientes (BAXTER *et al.*, 2004). O aumento das enzimas asparto amino transferase (AST) e alanina amino transferase (ALT) aparecem devido à lesão hepática característica dessa síndrome (KNAPEN *et al.*, 1998). A trombocitopenia ocorre devido a um aumento do consumo das plaquetas, uma vez que elas são ativadas e agregam para tamponar lesões do endotélio vascular (BAXTER *et al.*, 2004). A ativação das plaquetas e do endotélio vascular, hemólise e lesão hepática são as características patofisiológicas da síndrome HELLP, as quais também podem predispor à CID (BICK, 2000).

A CID ocorre quando o equilíbrio hemostático é rompido e há um predomínio da atividade procoagulante sobre a atividade anticoagulante. A CID foi primeiramente demonstrada em mulheres com PE, em 1964, por McKay *et al.*, ao encontrarem depósitos anormais de fibrina nas vilosidades placentárias e no endotélio de capilares glomerulares. Essas observações também foram feitas por Galton *et al.*, (1971). Acredita-se que o aumento dos níveis pressóricos na PE acarreta um aumento da pressão venosa uterina que leva à estase e rompimento dos vasos uteroplacentários. Esse estado hemorrágico pode provocar o descolamento prematuro da placenta (DPP), além de permitir a entrada de fator tecidual placentário na circulação materna, o qual promove a geração de trombina e consequente quebra do fibrinogênio em fibrina (OYELESE *et al.*, 2006; RANA *et al.*, 1999). O grau de DPP tem sido relacionado com a extensão de fibrina formada e a trombocitopenia, sugerindo que a coagulação é iniciada na região placentária (WEINER, 1986).

Simultaneamente às complicações maternas, podem surgir na PE, as complicações fetais e neonatais que incluem prematuridade iatrogênica, crescimento intra-uterino restrito (CIUR), oligoidrâmnio e risco aumentado de morte perinatal (YOUNG *et al.*, 2010).

Apesar dos inúmeros estudos envolvendo a PE, a fisiopatologia da doença ainda não foi elucidada. Admite-se que a PE inicia-se na placenta, no entanto, o órgão alvo materno é o endotélio. Na PE grave há evidências de hipoperfusão placentária e isquemia que incluem obstrução vascular difusa, deposição de fibrina, espessamento da camada íntima e aterosclerose (YOUNG *et al.*, 2010).

Lesão endotelial materna generalizada nos rins, fígado e cérebro provavelmente ocorre após a liberação de fatores vasopressores pela placenta.

Muitos marcadores plasmáticos de ativação e disfunção endotelial estão alterados nas gestantes com PE, como o fator de von Willebrand, fator VIII, fibronectina celular, fator tissular, E selectina, fator de crescimento derivado de plaqueta e endotelina (ROBERTS *et al.*, 2002, 2005; SUNIL *et al.*, 2004). A lesão endotelial materna pode ser claramente visualizada nos rins. Alterações ultraestruturais no glomérulo renal incluem aumento e vacuolização das células endoteliais e perda do espaço capilar, favorecendo a deposição de fibrina, que diminui a área de filtração e, conseqüentemente, provoca a redução do ritmo de filtração glomerular em até 40% (YOUNG *et al.*, 2010). Estudos recentes têm mostrado que além da alteração vascular, a PE está associada à intensa resposta inflamatória materna (REDMANN *et al.*, 1999, 2003; WALTER, 2000).

A vasoconstrição arteriolar, observada na PE, aumenta a resistência ao fluxo sanguíneo e, dessa forma, explica o aparecimento da hipertensão. Com o aumento da resistência periférica e da hipertensão, o volume plasmático é reduzido por perdas para o espaço extravascular, resultando no aparecimento de edema e hemoconcentração. A hemoconcentração, por sua vez, compromete a velocidade do fluxo sanguíneo, predispondo à ativação plaquetária e à coagulação sanguínea. As plaquetas ativadas mediam a ligação de leucócitos, promovendo a ativação de neutrófilos e a conseqüente produção de radicais livres do oxigênio, que contribuem para a lesão endotelial (ROBERTS *et al.*, 2002).

Um trabalho desenvolvido por Dekker *et al.* (1995) em pacientes que desenvolveram PE grave e precoce, examinadas 10 semanas após o parto, mostrou que estas pacientes eram portadoras, em maior frequência, de alterações trombofílicas (hiper-homocisteinemia, síndrome antifosfolipídica, deficiência de proteína S, e presença de anticorpo anticardiolipina). Van Pampus *et al.* (1999) identificaram em pacientes que tiveram PE em comparação às gestantes que evoluíram normalmente, as seguintes alterações comparativas: deficiência de proteína S; maior resistência à proteína C ativada; fator V Leiden elevado, hiper-homocisteinemia e maior nível de anticorpo anticardiolipina.

Apesar dos avanços na pesquisa para o entendimento da patogênese da PE, ainda não há tratamento para essa doença, a não ser a interrupção da gravidez. Da mesma forma, não existe um teste laboratorial capaz de diagnosticar ou excluir a doença. Uma vez que há diagnóstico de PE, uma série de exames laboratoriais é solicitada visando monitorar a trombocitopenia, hemólise, lesão hepática ou



comprometimento renal. No entanto, o diagnóstico só é confirmado pelos achados clínicos (YOUNG *et al.*, 2010).

## **2.2 Hemostasia**

O termo hemostasia refere-se ao processo que visa manter o sangue líquido dentro do espaço vascular. O êxito da hemostasia resulta do equilíbrio complexo e dinâmico envolvendo fatores procoagulantes, anticoagulantes e fibrinolíticos (O'RIONDAN *et al.*, 2003).

### **2.2.1 Hemostasia primária**

Didaticamente a hemostasia é dividida em três etapas para facilitar sua compreensão: hemostasia primária, secundária e terciária. A hemostasia primária, também denominada vasculo-plaquetária, inclui ações das plaquetas e dos vasos sanguíneos. Essas ações compreendem a vasoconstrição reflexa, adesão, secreção e agregação das plaquetas, culminando com a formação de um tampão plaquetário no local em que houve lesão da parede vascular.

Quando a barreira de células endoteliais é rompida expondo o subendotélio, as plaquetas rapidamente detectam o local lesado e aderem. A adesão é mediada pelos receptores (glicoproteína-GP) GPIb-IX-V e GP VI, os quais se ligam ao fator de von Willebrand (FvW) e ao colágeno, respectivamente. Esses receptores são primariamente responsáveis pela regulação inicial da adesão e ativação plaquetária no leito vascular. Após a adesão, um rápido sinal de transdução leva à ativação das plaquetas determinando alteração na forma e estímulo da liberação do conteúdo dos seus grânulos. O receptor de superfície GP IIb-IIIa permite a agregação plaquetária, mediada pelo fibrinogênio. A plaqueta ativada libera agonistas como a adenosina difosfato (ADP), ativando, assim, mais plaquetas no local lesado. As plaquetas ativadas contribuem para a ativação dos fatores da coagulação (hemostasia secundária) que culmina com a formação do coágulo de fibrina, estabilizando o tampão plaquetário inicial (ANDREWS *et al.*, 2004).

### **2.2.2 Hemostasia secundária**

A hemostasia secundária ou plasmática inclui a ativação sequencial dos fatores da coagulação que resulta na formação do coágulo de fibrina (SMITH, 2009).

#### **2.2.2.1 O modelo da cascata da coagulação**

Desde a década de 60 até recentemente foi aceito o modelo da cascata da coagulação, envolvendo duas vias, extrínseca e intrínseca. Nesse modelo, simultaneamente à ativação das plaquetas, os fatores da coagulação tornavam-se ativados num modelo em cascata, no qual a ativação de um fator implicava na ativação de outro e, assim, sucessivamente, culminando com a formação do coágulo de fibrina. O modelo em cascata consiste em uma sequência de etapas em que enzimas (proenzimas) clivam substratos de zimogênos para gerar a próxima enzima da cascata. A maioria das etapas da cascata ocorre na superfície de membranas celulares contendo fosfolípidos e requer cálcio (SMITH, 2009).

A via intrínseca envolve componentes do espaço intravascular e é iniciada pelo contato de superfícies carregadas negativamente com o fator XII (F XII), ativando-o. O F XIIa ativa fator XI (F XI) que ativa fator IX (F IX). O F IXa na presença de fator VIII ativado (F VIIIa) ativa o fator X (F Xa) que na presença de fator V ativado (F Va) cliva a protrombina/fator II (F II) em trombina/F IIa, a qual quebra o fibrinogênio/fator I (F I) em fibrina (SMITH, 2009).

A via extrínseca envolve componentes do sangue e também o fator tissular (FT) que usualmente não está presente no espaço intravascular. Inicia com a ativação do F VII pelo FT e formação subsequente do complexo FT:F VIIa que é capaz de ativar o F X na presença de F Va. A ativação dos fatores da coagulação a partir do fator X constitui a via comum da cascata (SMITH, 2009).

Este modelo em cascata da coagulação é bastante útil na interpretação laboratorial de testes no plasma para detecção de alterações da coagulação. Dessa forma, deficiências de fatores da via extrínseca ou comum podem ser identificadas utilizando o tempo de protrombina (TP), enquanto deficiências de fatores da via intrínseca ou comum irão refletir em um prolongamento do tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPa). Além disso, este modelo permite o estudo, identificação e entendimento da função de inibidores específicos da coagulação (SMITH, 2009).

Por outro lado, o modelo em cascata da coagulação sugere que as vias extrínseca e intrínseca operam independentemente *in vivo*, enquanto as manifestações clínicas de deficiências de fatores da coagulação claramente contradizem essa concepção. Assim, este modelo não pode explicar porque a ativação do F X pelo complexo FT/F VIIa não poderia compensar a deficiência do complexo F IXa/VIIIa. Além disso, pacientes com deficiências em componentes iniciais da via intrínseca como F XII, cininogênio de alto peso molecular ou pré-caliceína, essenciais para ativação do F XII, têm TTPa prolongado, mas não apresentam clinicamente uma tendência a hemorragia (HOFFMAN & MONROE, 2006).

Concluindo, o modelo da coagulação em cascata proposto em 1960 não explica porque uma via extrínseca intacta não poderia compensar a deficiência de F IX ou F VIII na hemofilia. Também, não explica porque a deficiência de F VII não é compensada pela via intrínseca perfeitamente funcionante. Estes questionamentos levaram os pesquisadores Hoffmam e Monroe a propor, em 2006, um novo modelo da coagulação.

#### **2.2.2.2 Modelo celular da coagulação (Monroe & Hoffman, 2006)**

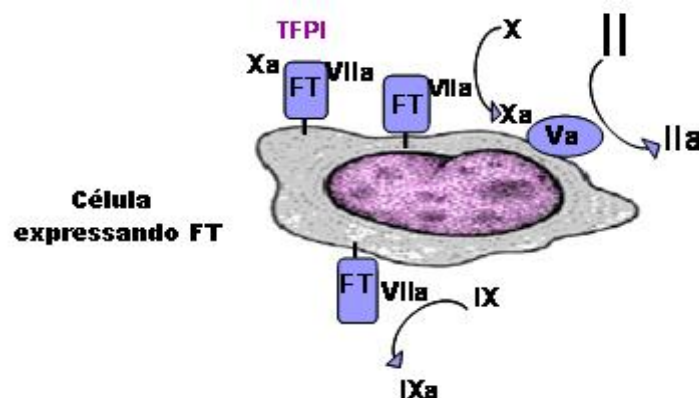
O novo modelo para entendimento da coagulação é baseado na interação de fatores da coagulação com superfícies celulares. Esse modelo sugere que a coagulação ocorre *in vivo* em fases sobrepostas distintas. Para isso requer a participação de dois tipos diferentes de células, células expressando FT e plaquetas (SMITH, 2009).

Células expressando FT estão geralmente localizadas fora dos vasos sanguíneos, o que previne a iniciação da coagulação em condições em que não há lesão endotelial. Algumas células circulantes como monócitos ou células tumorais, bem como micropartículas (MP) liberadas de membranas celulares, podem expressar FT em suas superfícies, porém, em condições normais, esse FT está inativo (SMITH, 2009).

Quando ocorre lesão vascular e o sangue circulante entra em contato com as células apresentando FT, o F VII rapidamente se liga ao FT exposto e se torna ativado. O complexo FT/F VIIa, em seguida, ativa mais F VII, permitindo assim, uma amplificação da atividade do complexo FT/F VIIa. Esse complexo ativa pequenas

quantidades de F IX e F X. Embora isso ocorra lentamente, o F V pode ser ativado diretamente pelo F Xa. O F Xa gerado pelo complexo FT/F VIIa se liga a algumas moléculas de seu cofator, F Va, para formar o complexo protrombinase, o qual cliva a protrombina em pequenas quantidades de trombina. O F Xa que se dissocia da membrana da célula expressando FT é rapidamente inativado pelo fator inibidor da via do fator tissular (TFPI) ou pela antitrombina (AT). Assim, o F Xa gerado tem atuação restrita à superfície da célula expressando FT, na qual foi gerado. No entanto, o F IXa pode dissociar e se mover para a superfície de plaquetas vizinhas ou de outras células, uma vez que não é inibido pelo TFPI ou AT. É importante notar que, como o FT é sempre expresso no espaço perivascular, algum F VIIa que escapa do leito vascular cruzando a barreira endotelial pode se ligar ao FT e iniciar a coagulação. Esse processo progride quando a lesão permite a saída de plaquetas e proteínas plasmáticas para o espaço extravascular e a adesão de células expressando FT nesse local (HOFFMAN & MONROE, 2006; MACKMAN *et al.*, 2007; MORRISEY *et al.*, 2006).

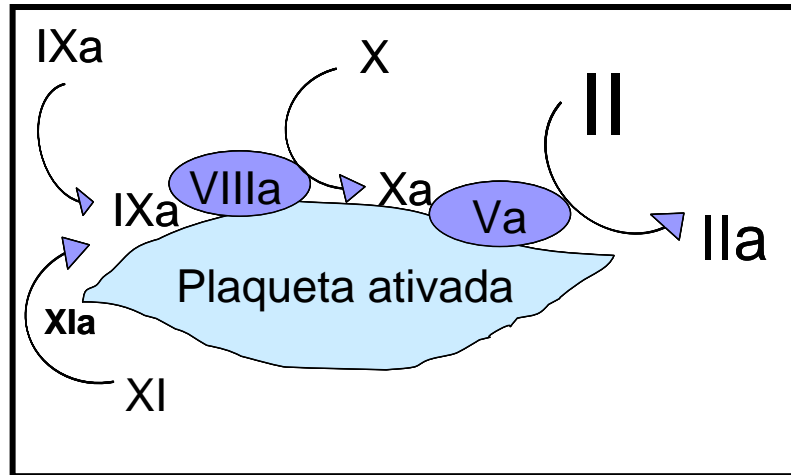
A nova teoria da coagulação proposta admite a ocorrência de três fases. A primeira é a iniciação, na qual ocorre a formação de pequena quantidade de trombina na superfície da célula expressando FT. Essa pequena quantidade de trombina é suficiente para ativar plaquetas que extravasaram do espaço intravascular para o local lesado, bem como a ativação dos fatores V e VIII (**Figura 1**) (HOFFMAN & MONROE, 2006).



**Figura 1** – Iniciação da coagulação (Adaptado de Hoffman & Monroe, 2006).



protrombina em trombina, caracterizando a fase de propagação. A atividade protrombinase resulta numa geração abrupta de trombina que leva à quebra de grande quantidade de fibrinogênio em fibrina (**Figura 3**) (HOFFMAN & MONROE, 2006).



**Figura 3 – Propagação da coagulação (Adaptado de Hoffman & Monroe, 2006).**

A protrombina sofre uma primeira clivagem e a liberação de um fragmento inativo (fragmento 1+2 da protrombina/F1+2). A seguir ocorre uma segunda clivagem que resulta na formação da trombina. Os níveis plasmáticos de F1+2 refletem a atividade enzimática do F Xa sobre a protrombina e constitui um marcador de geração de trombina (COLVIN, 2004).

O fibrinogênio é um dímero onde cada monômero está constituído de três cadeias distintas,  $\alpha$ A,  $\beta$ B,  $\delta$ . A trombina atua sobre a molécula de fibrinogênio liberando o peptídeo A da cadeia  $\alpha$  e, posteriormente, o peptídeo B da cadeia  $\beta$ , dando origem ao fibrinopeptídeo A e B (FPA e FPB) (HOFFMAN, 2003).

Adicionalmente, a trombina ativa fator XIII (F XIII). O F XIIIa modifica a fibrina polimerizada para formar ligações cruzadas entre as cadeias de fibrina, que são importantes para a força e elasticidade do coágulo de fibrina formado (HOFFMAN, 2003).

O novo modelo celular da coagulação mostra que as vias extrínseca e intrínseca não são redundantes. A via extrínseca opera na célula expressando FT para iniciar e amplificar a coagulação. Em contraste, a via intrínseca opera na superfície da plaqueta ativada para produzir grande quantidade de trombina que resulta na formação e estabilização do coágulo de fibrina (HOFFMAN & MONROE, 2006).

### **2.2.3 Hemostasia terciária ou fibrinólise**

Quando o coágulo de fibrina começa a ser formado, o sistema fibrinolítico já é ativado para limitar a sua magnitude, evitando comprometimento ou a oclusão da luz do vaso. O êxito do sistema fibrinolítico envolve um delicado balanço entre a reparação do local lesado e a dissolução do coágulo de fibrina, de modo a garantir a hemostasia (HOFFMAN & MONROE, 2006).

O efator final do sistema fibrinolítico é a plasmina que cliva fibrina em produtos de degradação de fibrina solúveis (PDF). A plasmina é produzida a partir do seu precursor inativo, o plasminogênio, que é ativado pelo ativador do plasminogênio do tipo uroquinase (uPA) e ativador tissular do plasminogênio (tPA). Os ativadores do plasminogênio são regulados pelos inibidores dos ativadores do plasminogênio (PAIs). O plasminogênio é encontrado em maior concentração no plasma que seus ativadores. Assim, a disponibilidade dos dois ativadores do plasminogênio no plasma determina a extensão de plasmina formada. O tPA é liberado pelas células endoteliais e juntamente com o plasminogênio se liga ao polímero de fibrina formado. A plasmina formada cliva a fibrina nos resíduos de lisina e arginina, resultando na dissolução do coágulo de fibrina (HOFFMAN & MONROE, 2006).

O inibidor da fibrinólise ativado pela trombina (TAFI) é um zimógeno que pode ser ativado (TAFIa) pela trombina ou plasmina. Quando a fibrina é degradada pela plasmina, resíduos terminais de lisina são expostos e causam uma ativação adicional para formação de plasmina a partir de plasminogênio. O TAFI remove os resíduos terminais de lisina da fibrina inibindo, dessa forma, a atividade de cofator da fibrina para ativação do plasminogênio (HOFFMAN & MONROE, 2006).

O sistema fibrinolítico é capaz de proteger o organismo contra processos ateroscleróticos e trombose aguda. Dessa forma, defeitos na fibrinólise aumentam o risco de doenças ateroscleróticas. Níveis plasmáticos elevados de inibidor do ativador do plasminogênio (PAI 1), assim como níveis diminuídos de plasminogênio estão associados ao risco aumentado de aterosclerose e trombose. A efetividade da hemostasia *in vivo* depende não somente das reações procoagulantes, mas também do sistema fibrinolítico (HUBER *et al.*, 2001; XIAO *et al.*, 1997).

#### **2.2.4 Mecanismos reguladores da coagulação sanguínea**

As reações bioquímicas da coagulação do sangue são reguladas com precisão, de modo a evitar uma ativação excessiva, formação inadequada de fibrina e consequente oclusão vascular. De fato, a atividade das proteases envolvidas na ativação da coagulação é regulada por diversas proteínas inibitórias, que atuam como anticoagulantes naturais (FRANCO, 2001).

O complexo F VIIa:FT atua sobre dois substratos principais; os fatores IX e X da coagulação, ativando-os. A ativação do F X é regulada pelo TFPI, uma proteína produzida pelas células endoteliais, que apresenta três domínios do tipo “Kunitz”. O primeiro domínio liga-se ao complexo F VIIa:FT, inibindo-o, e o segundo domínio liga-se e inibe o F Xa. Assim, a ativação direta do F X é regulada negativamente e de modo rápido na presença de TFPI limita a produção de F Xa e de F IXa. A ligação do F Xa é necessária para que o TFPI exerça seu papel inibitório sobre o complexo F VIIa:FT (FRANCO, 2001).

Outra importante via de anticoagulação do sangue é o sistema da proteína C (PC). A PC, quando ligada ao seu receptor no endotélio (EPCR), é ativada após a ligação da trombina ao receptor endotelial trombomodulina (TM). A proteína C ativada (PCa) inibe a coagulação, clivando e inativando os fatores Va e VIIIa, processo que é potencializado pela proteína S (PS), um cofator não enzimático nas reações de inativação. A identificação do sistema da PCa resultou na alteração conceitual do papel da trombina no sistema hemostático. Embora a trombina quando gerada em excesso tenha função procoagulante, quando produzida em pequena quantidade age como anticoagulante, tendo em vista que sua ligação à TM endotelial representa o evento principal para a ativação da via inibitória da PC (FRANCO, 2001).

A antitrombina (AT) é o inibidor primário da trombina e também exerce efeito inibitório sobre diversos outros fatores da coagulação, incluindo F IXa, F Xa e F XIa. Além disso, elimina qualquer atividade enzimática procoagulante excessiva indesejável. A molécula de sulfato de heparan, um proteoglicano presente na membrana das células endoteliais, acelera as reações catalisadas pela AT. A atividade inibitória da AT sobre a coagulação é eficazmente acelerada pela heparina, um polissacarídeo linear, estruturalmente semelhante ao sulfato de heparan (FRANCO, 2001).



As diferentes vias regulatórias citadas não operam isoladamente. Há um sinergismo entre o TFPI e a AT e entre o TFPI e o sistema da PC, suprimindo a gênese de trombina. Dessa forma, a AT inibe a ativação do F VII, mediada pelo F Xa, no complexo F VII:FT. Por outro lado, o TFPI inibe o excesso de ativação do F X pelo complexo F VII:FT. Em conjunto, o TFPI e o sistema da PCa inibem potentemente a gênese de trombina pelo complexo F VII:FT (FRANCO, 2001).

Em condições fisiológicas, na ausência de lesão vascular, há predomínio dos mecanismos anticoagulantes sobre os procoagulantes mantendo-se, desta forma, a fluidez do sangue (FRANCO, 2001).

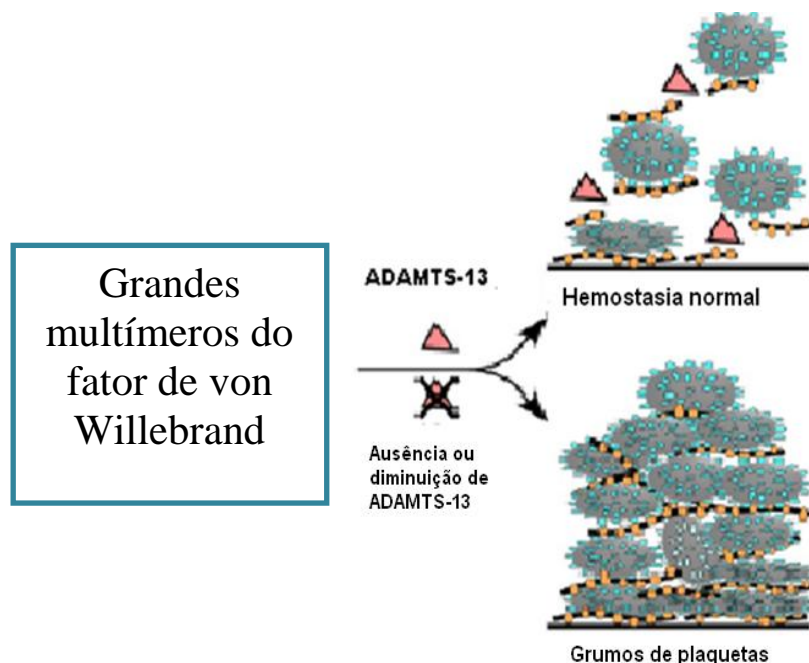
### **2.3 Fator de von Willebrand (FvW) e ADAMTS-13**

O fator de von Willebrand (FvW) é uma proteína multimérica composta de subunidades idênticas. Essas subunidades estão ligadas por ponte dissulfeto formando dímeros de aproximadamente 500 kD. Esses dímeros podem se ligar e formar multímeros de vários tamanhos que podem exceder 10000kD e um metro de comprimento (REININGER, 2008).

Apenas células endoteliais e megacariócitos sintetizam e estocam FvW. As células endoteliais sintetizam FvW como pré-pró FvW (peptídeo sinalizador), pró-peptídeo e a subunidade madura do FvW. Após a remoção do peptídeo sinalizador, ocorre dimerização e seguida multimerização do pró-peptídeo que é estocado nos grânulos dessas células. O pró-peptídeo é removido da molécula do FvW antes de sua secreção e é liberado no sangue (antígeno II de von Willebrand). O FvW é estocado nas células endoteliais em organelas denominadas corpos de *Weibel-Palade* e pode ser secretado por essas células, sob forma de grandes multímeros, tanto constitutivamente após sua síntese ou por mecanismos regulatórios, o qual será liberado já maduro após estimulação dessas células. O controle da secreção desses multímeros no local lesado depende da intensidade da ação trombogênica necessária (REININGER, 2008).

Os grandes multímeros são detectados no plasma apenas de forma transitória, após a indução da secreção por agentes terapêuticos ou em doenças como púrpura trombocitopenica trombótica (PTT) e síndrome hemolítica urêmica (REININGER, 2008).

A metaloproteinase ADAMTS-13 cliva os grandes multímeros do FvW, sendo responsável por sua ausência na circulação sanguínea (**Figura 4**). O termo ADAMTS corresponde à sigla *A Desintegrin And Metalloprotease with eight Thrombospondin-1-like* e o número 13 porque essa é a 13ª enzima de uma família de 19 enzimas. Esta enzima é sintetizada no fígado e apresenta tempo de meia vida de 2 a 4 dias (ANSTADT *et al.*, 2003; FURLAN *et al.*, 1998; PERUTELLI *et al.*, 2007; SADLER *et al.*, 2004).



**Figura 4 – Mecanismo de ação da ADAMTS-13 em condições normais e formação de grumos de plaquetas na ausência desta enzima**

O segundo local de estocagem do FvW, na forma de grandes multímeros, são os grânulos  $\alpha$  das plaquetas, os quais contêm 20% do FvW total presente no sangue. Os grandes multímeros do FvW são secretados pelas plaquetas após estimulação por agonistas como ADP, colágeno e trombina, o que garante a disponibilidade desses multímeros no local lesado. Os multímeros de FvW liberados tanto dos grânulos plaquetários, como dos corpos de *Weibel-Palade* das células endoteliais não estão ligados a moléculas do F VIII (REININGER, 2008).

O papel fisiológico do FvW inclui a adesão das plaquetas ao endotélio lesado e a participação no processo de agregação entre as plaquetas para formar o trombo plaquetário. Além disso, constitui a proteína carreadora do fator VIII da coagulação,

umentando consideravelmente a meia-vida plasmática desse fator (ANSTADT *et al.*, 2002).

A molécula do FvW apresenta alguns domínios com funções específicas. O domínio D é o sítio de ligação para o F VIII e a heparina. O domínio D $\phi$ -D3 pode se ligar a P selectina (produzidas pelos corpos de *Weibel-Palade* das células endoteliais), podendo ancorar grandes multímeros de FvW liberados para a superfície das células endoteliais ativadas e apresentar o sítio de clivagem do FvW à ADAMTS-13. O domínio A1 é o único sítio conhecido para ligação ao receptor plaquetário GPIIb e contém sítios adicionais para heparina e glicolípídeos sulfatados. O domínio A3 é o sítio de ligação para o colágeno fibrilar dos tipos I e II. O domínio C1 é o sítio de ligação para integrina  $\alpha$ IIb $\beta$ 3. O domínio A2 contém sítios para clivagem pela metaloprotease ADAMTS-13. Essa molécula liga-se por meio da porção carboxi terminal ao grande multímero de FvW expondo o domínio A2, que é clivado em subunidades monoméricas. O FvW é o único substrato conhecido para a ADAMTS-13 e representa apenas 0,02% das proteínas plasmáticas (REININGER, 2008; SADLER *et al.*, 2004).

As plaquetas não aderem às pequenas formas de FvW que circulam após a clivagem dos grandes multímeros de FvW, talvez porque a porção ligante GPIIb desse fator não esteja exposta nestas pequenas formas (ANSTADT *et al.*, 2002; MOAKE *et al.*, 1982).

A metaloprotease ADAMTS-13, ao clivar grandes multímeros de FvW, torna-se responsável no controle do tamanho do trombo, que pode perder até 70% de sua massa após 10 minutos do início da ação dessa enzima (PERUTELLI *et al.*, 2007).

## 2.4 Grupo sanguíneo ABO

O sistema ABO foi o primeiro grupo sanguíneo descrito no início do século XX. O cientista austríaco Karl Landsteiner separou hemácias e plasma do sangue de diversas pessoas e fez diferentes combinações entre esses, tendo como resultado a presença de aglutinação em alguns casos e ausência em outros. Assim, Landsteiner classificou os seres humanos em três grupos sanguíneos: A, B e O (cuja denominação proveio da expressão "*Ohne A, Ohne B*", ou seja, "Sem A e Sem B") e explicou por que algumas pessoas morriam depois de transfusões de sangue e outras não. Landsteiner não previu o grupo AB e em 1902, seus colaboradores von

Decastello e Sturli o descreveram. Em 1930 Landsteiner ganhou o Prêmio Nobel por seu trabalho (BEIGUELMAN, 2003).

Os antígenos do sistema ABO são hidratos de carbono sintetizados por influência de genes autossômicos. A determinação antigênica do sistema ABO é bastante complexa. Esta inclui a participação do gene ABO e do gene H. O gene H codifica a enzima fucosiltransferase, responsável pela adição da fucose aos paraglobosídeos N-acetilgalactosamina, D-galactose, N-acetilglicosamina, D-galactose, formando o antígeno H (BEIGUELMAN, 2003).

O gene ABO codifica glicuroniltransferases que incorporam moléculas de oligossacarídeo ao antígeno H. Indivíduos classificados como grupo sanguíneo O não produzem as enzimas glicuroniltransferases, devido às alterações genéticas que silenciam o gene ABO (BEIGUELMAN, 2003).

O alelo A codifica a síntese da enzima N acetil galactosamina transferase e, assim, a adição de uma molécula do carboidrato N acetil galactosamina às moléculas de antígeno H. Indivíduos de composição genética AA (homozigoto dominante) ou AO (heterozigoto) produzem o antígeno A e, dessa forma, são classificados como grupo A (BEIGUELMAN, 2003).

O alelo B codifica a síntese da enzima D galactose transferase e, assim, a adição de uma molécula do carboidrato D galactose às cadeias do antígeno H. Indivíduos de constituição genética BB ou BO produzem o antígeno B e, dessa forma, estes indivíduos são classificados como grupo B. Por fim, indivíduos de constituição genética AB possuem ambos os alelos em codominância e produzem os antígenos A e B (BEIGUELMAN, 2003).

Numa amostragem de doadores da Fundação Hemominas/Minas Gerais, foi obtida a seguinte distribuição dos grupos sanguíneos, apresentada no **Quadro 1**, que é representativa da população do Estado.

**Quadro 1 – Distribuição dos grupos sanguíneos numa amostragem de doadores da Fundação Hemominas/MG.**

Grupo sanguíneo	Total	Rh Positivo	Rh Negativo
<b>O</b>	47,3%	42,0%	5,3%
<b>A</b>	36,3%	32,2%	4,1%
<b>B</b>	12,5%	11,1%	1,4%
<b>AB</b>	3,9%	3,5%	0,4%
<b>Total</b>	100,0%	88,8%	11,2%

Dados da Fundação Hemominas/MG, 2006

### 2.5 Fator VIII, fator de von Willebrand (FvW) e grupo sanguíneo ABO

Os grupos sanguíneos “não O” estão associados a níveis plasmáticos mais elevados de F VIII e FvW que o grupo sanguíneo O (KAMPHUISEN *et al.*, 2001; MORELLI *et al.*, 2005; ORSTAVIK *et al.*, 1985; SHIMA *et al.*, 1995; SOUSA *et al.*, 2007). A elevação dos níveis plasmáticos de F VIII está associada ao aumento do risco de trombose venosa, doenças coronarianas, isquêmicas e cerebrovasculares (SOUTO *et al.*, 2000).

O FvW é uma proteína não eritrocítica que expressa antígenos do sistema ABO. Os oligossacarídeos do sistema ABO foram identificados no domínio A<sub>1</sub> da molécula de FvW que contém o sítio de ligação para o receptor plaquetário glicoproteína (GP) Ib (MATSUI *et al.*, 1992). O'Donnel *et al.* (2002) encontraram uma relação direta entre genótipo ABO, expressão de transferase (enzima responsável pela adição do oligossacarídeo à substância H) e a quantidade de antígeno A expresso na molécula de FvW circulante. Da mesma forma, Morelli *et al.* (2005) demonstraram uma correlação entre os alelos A e B e os níveis plasmáticos de FvW e de F VIII.

O mecanismo pelo qual os determinantes ABO influenciam os níveis plasmáticos de FvW ainda não está esclarecido e algumas hipóteses têm sido propostas para explicar esse fenômeno (JENKINS & O'DONNELL, 2006). Primeiramente, existe a hipótese que a presença dos oligossacarídeos A e B na molécula de FvW aumentam a atividade desse fator (SARODE *et al.*, 2000). Segundo, há evidências de que a ausência de oligossarídeos A e B na molécula do FvW está associada ao aumento do *clearance* hepático de FvW (VLOT *et al.*, 2000).

Este grupo observou que o F VIII infundido em pacientes com hemofilia A desaparece mais rapidamente nos pacientes do grupo O comparados aos do grupo “não O”. Finalmente, estudos recentes sugeriram que os determinantes do grupo sanguíneo ABO podem influenciar a suscetibilidade do FvW plasmático à proteólise pela ADAMTS-13. Essa proteólise foi significativamente mais rápida em indivíduos do grupo O em relação a indivíduos do grupo “não O” (BOWEN, 2003; JENKINS & O’DONNELL, 2006).

Para elucidar o papel do grupo ABO, do FvW e do F VIII no processo de trombose venosa profunda, um estudo realizado com 301 pacientes e 301 indivíduos hígidos mostrou, pela análise univariada, que o risco de trombose aumentou com o aumento dos níveis de FvW e F VIII e foi maior em indivíduos “não O” que no grupo O. No entanto, na análise multivariada apenas o F VIII permaneceu como um fator de risco, sugerindo uma relação íntima entre grupo sanguíneo e concentração de FvW (KOSTER *et al.*, 1995).

Tirado *et al.* (2005) analisaram 250 pacientes com trombose venosa e 250 indivíduos hígidos e encontraram níveis de FvW mais elevados no grupo “não O”, o qual foi mais frequente nos pacientes. No entanto, o risco atribuído ao FvW foi fortemente dependente do grupo sanguíneo, pois desaparecia após o ajuste para os grupos ABO. Resultados semelhantes foram encontrados por Ohira *et al.* (2007) no estudo LITE (*Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology*).

Recentemente, foi observado que os alelos  $A^1$ ,  $A^2$  e  $B$  do sistema ABO constituem fatores de risco independentes para a ocorrência de trombose venosa em indivíduos jovens da grande Belo Horizonte/MG (PAIVA *et al.*, 2009).

## **2.6 Aspectos hemostáticos da gravidez e da PE**

A gravidez normal está associada a alterações complexas da hemostasia que resultam em um estado de hipercoagulabilidade sanguínea. A hipercoagulabilidade que ocorre ao longo da gravidez visa uma ação eficaz na zona de inserção placentária no momento do parto, de modo a prevenir uma hemorragia excessiva. Sabe-se que o fluxo placentário em um feto a termo é cerca de 800-1000mL/min e este aporte sanguíneo é bruscamente interrompido no momento do parto, exigindo uma ação eficiente do mecanismo hemostático para tamponar os vasos rompidos (O’RIORDAN *et al.*, 2003).

As alterações hemostáticas na gravidez compreendem um aumento dos fatores da coagulação, que são dependentes da vitamina K (fatores II, VII, IX e X), de F VIII, de FvW e de fibrinogênio (BONNAR *et al.*, 1970; STIRLING *et al.*, 1984).

A resistência à proteína C mostra-se estável ou levemente aumentada e a proteína S livre e total mostram uma diminuição progressiva na gravidez normal (CLARK *et al.*, 1998, 2001; FERNANDEZ *et al.*, 1989; KLUFT, *et al.*, 1999; LOWE *et al.*, 1999).

Biezenski e Moore (1958) demonstraram uma diminuição gradual da fibrinólise durante a gravidez, com os menores valores ocorrendo no terceiro trimestre. Outros estudos mostraram que as concentrações plasmáticas dos ativadores do plasminogênio, t-PA e u-PA, bem como do PAI-1 estavam aumentadas na gravidez (HALLIGAN *et al.*, 1994; KOH *et al.*, 1992;). Dusse (1999) encontrou níveis aumentados de t-PA e de PAI-1 em gestantes com PE grave ao comparar os níveis destes marcadores com gestantes normotensas. O D-dímero, largamente utilizado como marcador da atividade do sistema de coagulação, apresentou-se aumentado durante a gestação e diminuído no período puerperal (DUSSE, 1999; GHIRARDINI *et al.*, 1999; HIGGINS *et al.*, 1998).

A PE está associada a um estado de hipercoagulabilidade ainda mais evidente que a condição fisiológica da gravidez. Deposição de fibrina no subendotélio dos glomérulos renais, nas artérias espirais e lesões oclusivas na vasculatura placentária foram relatadas em mulheres com PE (O'RIONDAN *et al.*, 2003). Estelles *et al.* (1998) sugeriram que as manifestações clínicas da doença são secundárias à hipoperfusão resultante da formação de trombos na microcirculação placentária e do excesso de deposição de fibrina em vários órgãos maternos comprometendo a função desses.

Resultados conflitantes têm sido encontrados na literatura com relação à associação de fatores trombofílicos e ocorrência de PE. Dusse *et al.* (2007), avaliando mulheres brasileiras, não obtiveram a associação entre ocorrência de PE e a presença da mutação dos genes do fator V (F V Leiden) e do fator II da coagulação, bem como da enzima metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR). De forma semelhante essa associação também não foi obtida em estudos conduzidos na Itália (D' ANIELLO *et al.*, 2003; FABBRO *et al.*, 2003), Holanda (DE GROOT *et al.*, 1999) e Alemanha (DE MAAT *et al.*, 2004; GERHARDT *et al.*, 2004). No entanto, em mulheres de Israel, foi obtido um aumento de 3 a 5 vezes na incidência de PE

em mulheres portadoras do F V Leiden e das mutações nos genes do F II e da MTHFR (KUPFERMINC *et al.*, 2000). O sinergismo entre F V Leiden e complicações da gravidez, incluindo PE, também foi observado em mulheres na Grécia (AGORASTOS *et al.*, 2002). Recentemente, duas metanálises indicaram a associação da presença do F V Leiden e PE (DUDDING e ATTIA, 2004; LIN e AUGUST, 2005). O estabelecimento dessa associação provavelmente é influenciado pela frequência destas mutações na população estudada. Prascimunto *et al.* (2004), demonstraram a importância da origem étnica da população avaliada, ao constatar uma associação entre o F V Leiden e PE na Croácia e Alemanha, mas não na Indonésia.

Uma elevação na razão FvW:F VIII nas gestações que apresentavam complicações vasculares foi relatada. Níveis elevados de FvW nas doenças associadas à ativação endotelial, como a PE, poderiam contribuir para elevação dos níveis de F VIII. Por outro lado a ativação do processo de coagulação pode acarretar um consumo de F VIII e, conseqüentemente, a redução dos níveis plasmáticos desse fator (BONNAR *et al.*, 1977; O`RIORDAN *et al.*, 2003; WITSENBURG *et al.*, 2005).

Lattuada *et al.* (2003) observaram uma diminuição significativa da atividade da ADAMTS-13 em pacientes com síndrome HELLP em comparação com gestantes normotensas. Em concordância com esses achados, Hulstein *et al.* (2006) também relataram uma diminuição da atividade plasmática da ADAMTS-13 e um aumento significativo dos níveis de FvW em pacientes com síndrome HELLP em relação às gestantes normotensas.

## **2.7 Grupo sanguíneo ABO e PE**

Em 1954, Pike *et al.* avaliaram a distribuição do grupo sanguíneo em 3651 pacientes admitidas na Maternidade de *Greenford* entre março de 1951 a abril de 1954. Entre essas pacientes, 541 desenvolveram PE. Ao comparar a distribuição do grupo sanguíneo entre gestantes com PE e gestantes normotensas, observaram um maior número de mulheres do grupo sanguíneo O entre as gestantes que desenvolveram a doença. Assim, estes pesquisadores sugeriram que a PE poderia ser resultado de uma reação antígeno-anticorpo.



Dickins *et al.* (1956), reavaliaram os critérios de diagnóstico de PE utilizados por Pike *et al.* (1954), restringindo o número de casos diagnosticados como PE e refizeram a associação dessa doença e grupo sanguíneo ABO. Esses pesquisadores confirmaram a associação de grupo sanguíneo O e PE.

Pearson *et al.* (1956) repetiram esta investigação em uma série similar de pacientes incluídas no estudo de Pike *et al.* (1954), porém oriundas de outro hospital. Nesse estudo, foram avaliadas 675 pacientes admitidas na maternidade de *Hammersmith* entre 1949 e 1954 que desenvolveram PE. Os mesmos critérios clínicos utilizados pelo grupo anterior foram utilizados por esse grupo. Os resultados revelaram que a distribuição das pacientes por tipo sanguíneo não foi diferente entre as gestantes que desenvolveram PE e as gestantes normotensas, contrastando com as conclusões do estudo de Pike *et al.* (1954).

May (1973) relatou dois estudos retrospectivos que mostraram uma maior incidência de desenvolvimento de PE em mulheres do grupo sanguíneo A, em comparação com aquelas do grupo sanguíneo O e o risco relativo (A:O) foi de 2,7:1.

Em resposta aos achados de May (1973), Harlap e Davies (1974) relataram, no mesmo jornal, que a distribuição do tipo sanguíneo entre gestantes do leste de Jerusalém que desenvolveram PE não diferiu daquela obtida para gestantes normotensas. Dessa forma, esses pesquisadores não conseguiram confirmar a associação entre PE e grupo sanguíneo A encontrada por May (1973). Resultados concordantes a esses últimos foram obtidos por South e Nalbrett (1974) em Londres.

Spinillo *et al.* (1995) ao considerar a discrepância entre os resultados encontrados na literatura da associação grupo sanguíneo ABO e ocorrência de PE, realizaram um estudo caso controle entre PE grave e tipo sanguíneo ABO. Esse estudo foi o primeiro no qual foi empregada a análise multivariada para averiguar a associação entre grupo sanguíneo materno e o desenvolvimento de PE. No estudo foram incluídas somente gestantes primigestas com PE grave, classificadas de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS). Esse estudo mostrou um aumento do risco de ocorrência de PE em gestantes do grupo sanguíneo AB em comparação com grupo controle (OR=3,1/ IC=1,5-6,4). No entanto, esses pesquisadores evidenciaram a necessidade de confirmar este achado em estudos maiores.

Sezik *et al.* (2002) conduziram um estudo para avaliar a distribuição do grupo sanguíneo ABO e fator Rh materno em gestantes que desenvolveram síndrome

HELLP. Os resultados mostraram uma maior frequência de síndrome HELLP nas gestantes do grupo O Rh negativo (OR=3,1; IC= 1,28-7,43).

Hiltunem *et al.* (2009), em um estudo caso-controle, observaram diferenças significativas na distribuição do grupo sanguíneo ABO entre as gestantes com PE e as gestantes normotensas. O grupo AB foi significativamente associado com o aumento do risco de desenvolvimento de PE (OR= 2,1/ IC= 1,3-3,5).

A dificuldade diagnóstica da PE poderia justificar a discordância de resultados entre os estudos que investigaram grupo sanguíneo ABO e ocorrência desta doença.

Nenhum trabalho foi conduzido até o momento no sentido de elucidar esta questão na população brasileira. Assim, faz-se mister estudos que avaliem esta associação, levando em conta as características da nossa população.

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar a relação da atividade de F VIII, dos níveis plasmáticos de FvW e de ADAMTS-13 e do grupo sanguíneo ABO e a ocorrência de pré-eclâmpsia grave.

### **3.2 Objetivos específicos**

- ✓ Determinar e comparar a atividade de F VIII, os níveis plasmáticos de FvW e de ADAMTS-13 em gestantes com PE grave, gestantes normotensas e mulheres não gestantes.
- ✓ Realizar a fenotipagem dos grupos sanguíneos do sistema ABO em gestantes com PE grave, gestantes normotensas e mulheres não gestantes e investigar a associação do grupo sanguíneo ABO e a ocorrência da PE grave.
- ✓ Comparar a atividade de F VIII e os níveis plasmáticos de FvW nas participantes do estudo agrupadas como grupos sanguíneos O e “não O”.
- ✓ Investigar a associação da atividade de F VIII, dos níveis plasmáticos de FvW e de ADAMTS-13 e do grupo sanguíneo ABO com a PE grave.

## ***4 MATERIAL E MÉTODOS***

## 4.1 Casuística

### 4.1.1 Aspectos éticos

Este estudo foi previamente analisado, sob o ponto de vista ético e formal, e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (ETIC 0020.0.203.000-10) (**ANEXO A**). Foi também analisado e aprovado pela Diretoria do Hospital Público Regional de Betim (HPRB) / Betim – MG (**ANEXO B**), pelo NEP/ Maternidade Odete Valadares (MOV) / Belo Horizonte / Minas Gerais – Parecer FHEMIG: Nº 77/08, CAAE: 00.40.0.287.203-0 (**ANEXO C**) e pela gerência da Unidade Básica de Saúde da Família (UBSF) Guanabara/Betim-MG (**ANEXO D**).

O esclarecimento dos objetivos da pesquisa foi feito pelos pesquisadores, utilizando-se linguagem clara, a todas as mulheres integrantes do estudo. Todas assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (**ANEXO E**).

### 4.1.2 Seleção das integrantes do estudo

O estudo constitui-se de três grupos. O primeiro, de gestantes apresentando PE grave (n=60), o segundo de gestantes normotensas (n=50) e o terceiro de mulheres não gestantes (n=50). As gestantes do primeiro grupo foram selecionadas na maternidade do HPRB e na MOV. As mulheres do segundo e terceiro grupos foram selecionadas no posto de saúde UBSF Guanabara/Betim. Das mulheres selecionadas para o estudo, foi feita a coleta manual, em ficha individual padronizada, dos dados clínicos e laboratoriais de interesse a partir do cartão de pré-natal e/ou prontuário médico (**ANEXO F**).

As gestantes do grupo I e II foram reagrupadas segundo a idade gestacional,  $\geq 29$  semanas e  $< 29$  semanas, para avaliação dos parâmetros hemostáticos.

#### 4.1.2.1 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão das gestantes com PE grave (grupo I) foram:

- Mínimo de dois episódios de pressão sistólica/diastólica  $\geq 160/110$ mmHg e/ou;

- Proteinúria superior a 2g/L em urina de 24 horas e/ou maior que (++) , em amostras isoladas, pelo método semi-quantitativo de fita, conforme o protocolo clínico adotado na MOV e HPRB e/ou;
- Sintomas (escotoma, epigastralgia, reflexo patelar, cefaléia).

A classificação da doença como PE grave foi feita pela equipe obstétrica.

Para o grupo das gestantes normotensas (grupo II) e mulheres não gestantes (grupo III) os critérios de inclusão foram:

- Pressão sistólica/diastólica igual ou inferior a 120/80mmHg e sem qualquer história de hipertensão
- Ausência de proteinúria.

#### **4.1.2.2 Critérios de exclusão**

Os critérios de exclusão comuns aos três grupos foram:

- Obesidade
- Presença de doenças intercorrentes como distúrbios da coagulação, doenças renais, cardiovasculares, autoimunes, hepáticas, diabetes, câncer e hipertensão crônica.
- Trabalho de parto avançado
- Presença de sangramento de qualquer natureza.

As integrantes dos três grupos avaliados pertenciam à mesma classe social.

#### **4.2 Amostra biológica**

Foram coletadas de cada participante do estudo, amostras de 5mL de sangue venoso em citrato de sódio 0,129mol/L diretamente em tubos do Sistema BD Vacutainer® (Becton-Dickinson), devidamente identificados.

As amostras foram centrifugadas a 3000rpm à temperatura ambiente por 15 minutos, em centrífuga FANEN<sup>®</sup> (São Paulo, Brasil). O plasma foi aliqotado e armazenado a cerca de -70°C até o momento da realização dos testes laboratoriais.

### **4.3 Métodos**

#### **4.3.1 Avaliação da coagulação**

##### **4.3.1.1 Determinação do F VIII**

A determinação da atividade de F VIII foi feita por método coagulométrico, utilizando plasma deficiente em F VIII (Dade Behring<sup>®</sup>, Marburg, Alemanha), seguindo-se rigorosamente as instruções do fabricante.

O princípio do teste consiste na determinação do tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPa) de uma mistura de plasma deficiente em F VIII e plasma do paciente (1:1). O F VIII presente no plasma do paciente pode compensar a ausência desse fator no plasma deficiente. A atividade de F VIII é expressa em porcentagem (%) e é determinada por meio de uma curva de calibração, feita a partir de quatro diluições de um *pool* de plasma normal em tampão imidazol.

Para o plasma controle, cujo valor esperado era 25% (19-31%), foram obtidos os valores de 23,1% e 20,7% para o primeiro e segundo conjuntos diagnósticos utilizados, respectivamente.

A faixa de referência da atividade de F VIII, fornecida pelo fabricante, é de 70 a 150%. No entanto, o mesmo recomenda que cada laboratório determine a sua faixa de normalidade.

O ensaio foi realizado utilizando-se o equipamento BFT\* II Analyzer – Dade Behring<sup>®</sup> (Alemanha).

##### **4.3.1.2 Determinação do FvW**

A determinação dos níveis plasmáticos de FvW foi feita por ELISA (*enzyme linked immune assay*) de captura, utilizando-se o conjunto diagnóstico IMUBIND<sup>®</sup> FvW (American Diagnostica<sup>®</sup> Inc., Stamford, USA), seguindo-se rigorosamente as instruções do fabricante.



O princípio do teste consiste na captura dos antígenos FvW presentes nos plasmas testados, por anticorpos policlonais (antiFvW), fixados na superfície de uma placa. Os antígenos não capturados são retirados por lavagens sucessivas. Em seguida, adicionam-se anticorpos policlonais (conjugados com peroxidase), que vão se ligar a determinantes antigênicos do FvW (capturados na etapa anterior), distintos daqueles ligados aos primeiros anticorpos. Os anticorpos conjugados com peroxidase (*horseradish* peroxidase – HRP) que não se ligaram ao FvW são, posteriormente, retirados por lavagens sucessivas. A revelação dos antígenos capturados na primeira etapa é feita pela determinação da reação da enzima peroxidase (HRP) ligada ao segundo anticorpo, com o substrato TMB (perborato 3, 3', 5, 5'-tetrametilbenzidina), gerando um produto de coloração azul. Essa reação é interrompida pela adição de ácido sulfúrico e a cor torna-se amarela. A intensidade da cor produzida (determinada fotometricamente) é diretamente proporcional à concentração de FvW na amostra plasmática.

O fabricante não fornece valores de referência para os níveis plasmáticos de FvW.

A leitura das reações foi feita utilizando-se o leitor de microplacas VersaMax *Microplate Reader* - MOLECULAR DEVICES (USA). A concentração dos parâmetros analisados de cada plasma testado foi obtida interpolando-se as leituras das amostras em uma curva padrão.

#### **4.3.1.3 Determinação da ADAMTS-13**

A determinação da ADAMTS-13 plasmática foi feita por ELISA de captura, utilizando-se o conjunto diagnóstico IMUBIND<sup>®</sup> ADAMTS-13 (American Diagnostica<sup>®</sup> Inc., *Stamford, USA*), seguindo-se rigorosamente as instruções do fabricante, cujo princípio é semelhante ao descrito para o FvW. Porém, a captura dos antígenos ADAMTS-13 presentes nos plasmas testados, é feita por anticorpos monoclonais (antiADAMTS-13) e, após lavagens sucessivas, adicionam-se anticorpos policlonais biotinilados que vão se ligar a determinantes antigênicos da ADAMTS-13 (capturados na etapa anterior). Em seguida, adiciona-se peroxidase conjugada com estreptavidina-horseradish (SA-HRP) para completar a formação do complexo de detecção anticorpo-enzima.

Para o plasma de referência fornecido pelo fabricante, cujo valor era  $26,2 \pm 2,6$  ng/mL, foram obtidos os valores 26,2 e 20,7 ng/mL para o primeiro e segundo conjuntos diagnósticos utilizados, respectivamente.

A faixa dos valores de referência da ADAMTS-13 plasmático, fornecido pelo fabricante, é de 630 a 850 ng/mL. No entanto, o mesmo recomenda que cada laboratório determine a sua faixa de normalidade.

#### **4.3.2 Fenotipagem do grupo sanguíneo ABO**

A fenotipagem foi realizada pela técnica indireta. Para cada participante do estudo, três tubos foram identificados como A, B e O, nos quais foram colocadas duas gotas de suspensão a 5% de hemácias lavadas, previamente classificadas como A, B e O, respectivamente. A cada um destes tubos foram colocadas duas gotas do plasma a ser classificado. Os tubos foram homogeneizados e centrifugados a 1500rpm por dois minutos. A leitura foi feita ressuspensando o sedimento delicadamente e observando se houve ou não aglutinação (CARVALHO & SILVA, 1990).

A interpretação da tipagem indireta do grupo sanguíneo ABO encontra-se resumida no **Quadro 2**.

**Quadro 2 – Interpretação da tipagem indireta do grupo sanguíneo ABO.**

<b>Grupo sanguíneo</b>	<b>Hemácia A</b>	<b>Hemácia B</b>	<b>Hemácia O</b>
O	+	+	-
A	-	+	-
B	+	-	-
AB	-	-	-

+ presença de aglutinação  
- ausência de aglutinação

#### 4.4 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi feita utilizando o programa SPSS (versão 13.0). A normalidade dos dados foi testada pelo método *Shapiro-Wilk*. A comparação das medianas das variáveis contínuas foi feita pelo teste de *Kruskal-Wallis*. A comparação dos resultados entre dois grupos foi feita pelo método de *Mann-Whitney*. A comparação da variável categórica (grupo sanguíneo) foi feita pelo teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ).

Para o modelo de regressão logística, foi inicialmente realizada uma análise univariada com os parâmetros na forma categorizada. Para as variáveis F VIII e ADAMTS-13, foram utilizados os valores 150% e 630 ng/mL, respectivamente como pontos de corte para categorização. Para o FvW, pelo fato dos valores de referência não serem fornecidos pelo fabricante, foi utilizado o quartil de 75% do grupo III. A adequação do modelo foi realizada pelo método de *Hosmer e Lemeshow*, considerando satisfatório um valor de  $p > 0,05$ .

Foram consideradas como diferenças significativas valores de  $p < 0,05$ .

## **5 RESULTADOS**

## 5.1 Características clínicas dos grupos avaliados

As características clínicas das participantes dos três grupos avaliados neste estudo estão apresentadas na **Tabela 1**

**Tabela 1 – Características clínicas das participantes do estudo.**

	Grupo I (n = 60)	Grupo II (n = 50)	Grupo III (n = 50)	p <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>	p <sup>3</sup>	p <sup>4</sup>
Idade (anos)	26 (21-20)	23 (18-29)	26 (26-30)	-	-	-	0,25
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	23 (21-28)	23 (21-27)	22 (21-25)	-	-	-	0,25
IG (sem)	33 (31-33)	32 (28-35)	-	0,06	-	-	-
GPG (Kg)	12 (9-15)	9 (4-12)	-	0,00*	-	-	-
Nº gestações	1 (1-2)	2 (1-2)	-	0,57	-	-	-
Nº abortos	0 (0-0)	0 (0-0)	-	0,37	-	-	-
PA sist. (mmHg)	160 (160-180)	110 (100-110)	120 (110-120)	0,00*	0,00*	0,01*	0,00*
PA diast. (mmHg)	100 (100-110)	70 (60-70)	80 (70-80)	0,00*	0,00*	0,01*	0,00*

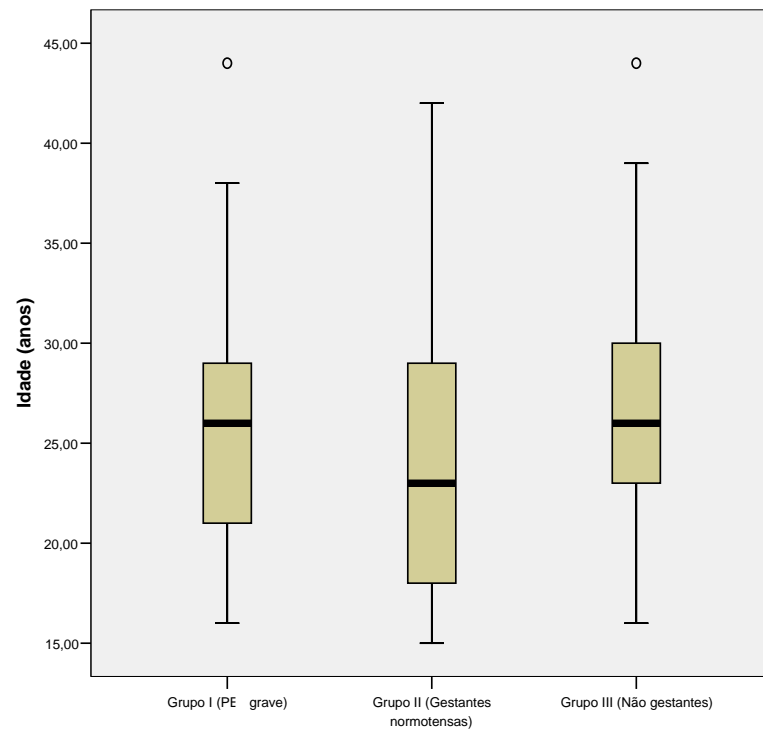
IMC: Índice de massa corporal; IG: idade gestacional; sem: semanas; GPG: ganho de peso na gestação; PA: pressão arterial; sist: sistólica; diast: diastólica.

\*p < 0,05. Os dados não-paramétricos são apresentados como mediana (intervalo interquartil) (*Mann-Whitney/Kruskal-Wallis*).

p<sup>1</sup>: grupo I x grupo II; p<sup>2</sup>: grupo I x grupo III; p<sup>3</sup>: grupo II x grupo III; p<sup>4</sup>: grupo I x grupo II x grupo III.

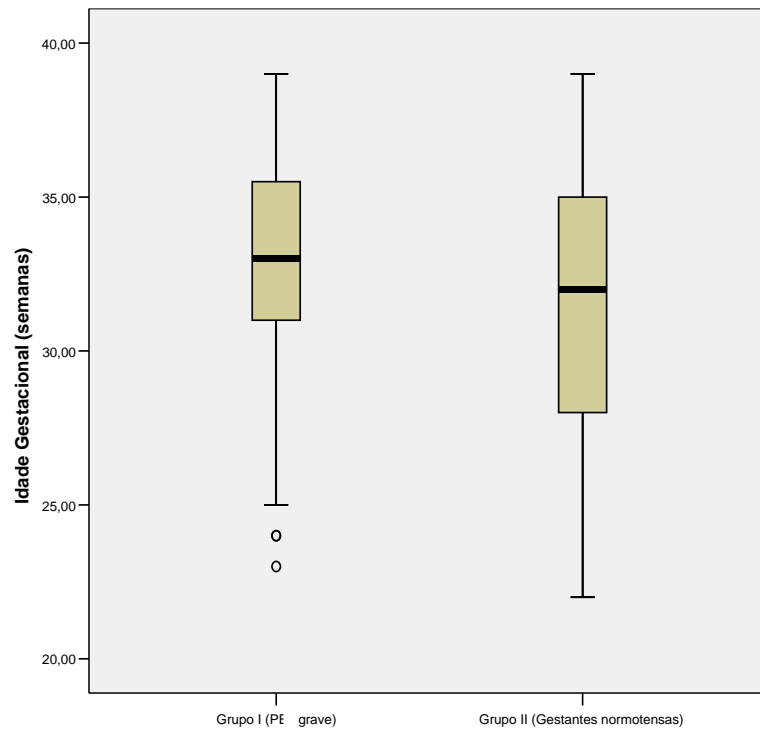
As características clínicas das participantes dos grupos I e II foram obtidas nos prontuários médicos e no cartão de pré-natal. Os dados das participantes do grupo III foram obtidos durante a entrevista.

A comparação estatística da idade das integrantes dos três grupos revelou que não houve diferença significativa entre as medianas obtidas (p=0,25), como mostra a **Figura 5**. Também não foi encontrada diferença comparando-se o índice de massa corporal (p=0,25).



**Figura 5 – Mediana e intervalo interquartil da idade das integrantes dos grupos I, II e III.**

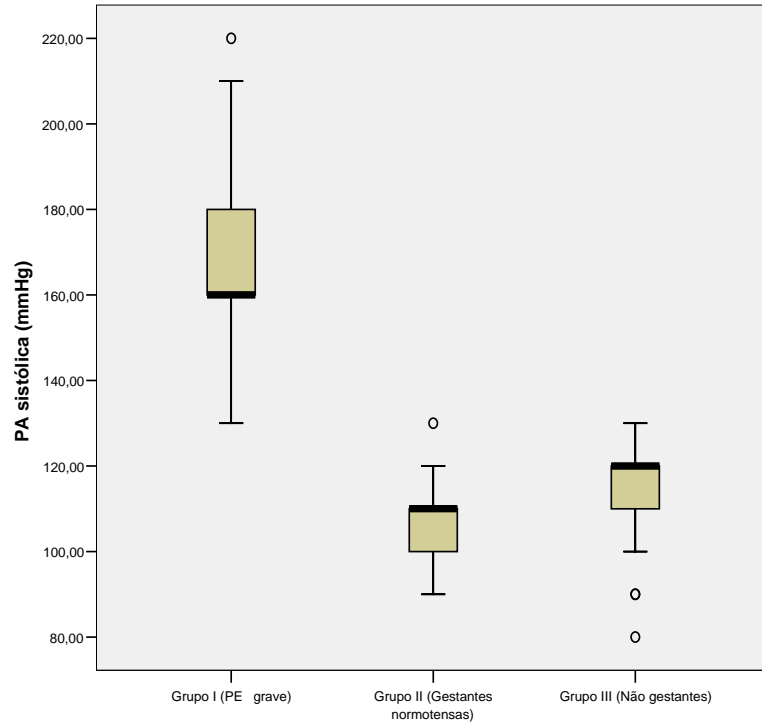
Não houve diferença entre a idade gestacional ( $p=0,06$ ), como mostra a **Figura 6**, o número de gestações ( $p=0,57$ ) e o número de abortos ( $p=0,37$ ) comparando-se as gestantes com PE grave e as normotensas.



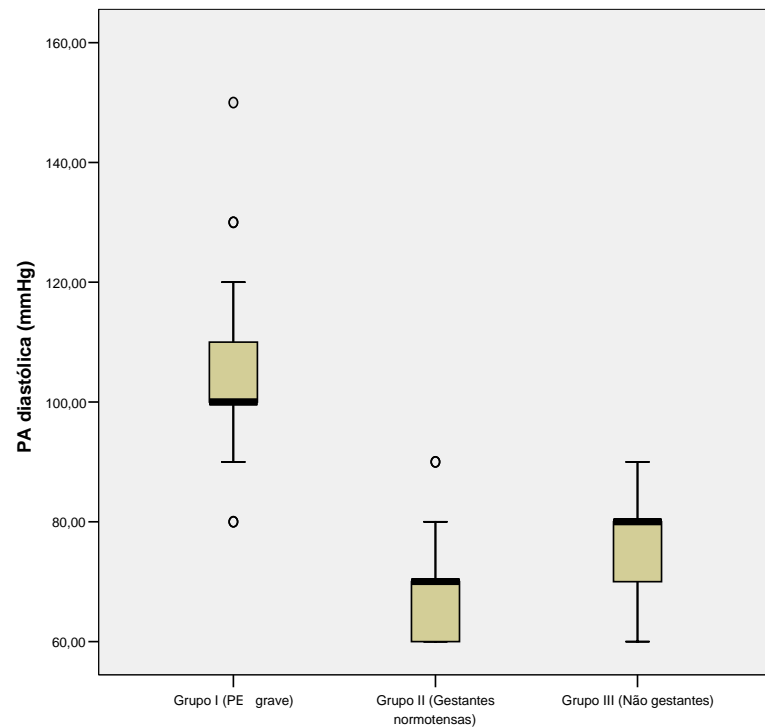
**Figura 6 – Mediana e intervalo interquartil da idade gestacional das integrantes dos grupos I e II.**

O ganho de peso na gestação foi significativamente superior no grupo I, em relação ao grupo II ( $p=0,00$ ).

Os valores da pressão sistólica ( $p=0,00$ ) e da pressão diastólica ( $p=0,00$ ) foram diferentes comparando-se os três grupos, como mostram as **Figuras 7 e 8**.



**Figura 7 – Mediana e intervalo interquartil dos valores de pressão arterial (PA) sistólica (mmHg) nos grupos I, II e III.**



**Figura 8 – Mediana e intervalo interquartil dos valores de pressão arterial (PA) diastólica (mmHg) nos grupos I, II e III.**



## 5.2 Avaliação dos parâmetros laboratoriais das gestantes com PE grave

Os dados laboratoriais das pacientes com PE grave, obtidos a partir dos prontuários médicos, estão apresentados na **Tabela 2**.

**Tabela 2 – Parâmetros laboratoriais das gestantes com PE grave (grupo I, n=60)**

Parâmetros	Média/Mediana	DP/IQ (25-75%)
Nº de hemácias x 10 <sup>6</sup> /mL	4,1	6,8
Hemoglobina (g/dL)	12,0*	11,0-12,8
Hematócrito (%)	36,1	0,6
Nº de plaquetas x 10 <sup>3</sup> /mL	187,0	9,0
AST (U/L)	25,0*	17,5-36,5
ALT (U/L)	22,0*	11,0-29,0
Ácido Úrico (mg/dL)	5,71	0,18
Bilirrubina Total (mg/dL)	0,35*	0,29-0,46
Bilirrubina Indireta (mg/dL)	0,21*	0,10-0,33
Bilirrubina Direta (mg/dL)	0,10*	0,04-0,20
LDH (U/L)	361,0*	270,0-488,0
Proteinúria (g/24hrs)	2,33*	0,97-4,88
Proteinúria fita <sup>1</sup>		
Negativa	02 (7%)	-
Positiva		
+	02 (7%)	-
++	08 (28%)	-
+++	11 (38%)	-
++++	06 (20%)	-

AST: aspartato amino transferase; ALT: alanina amino transferase; LDH: desidrogenase láctica.

\* Dados apresentados como mediana ± intervalo interquartil. Para as variáveis que seguem a normalidade dados são apresentadas como média ± desvio padrão (DP). <sup>1</sup> Números absolutos.

A análise da **Tabela 2** mostra que as medianas da atividade da desidrogenase láctica (LDH) e proteinúria estavam acima da faixa de referência desses analitos (100 a 190U/L e negativa, respectivamente). Os parâmetros do hemograma, as enzimas hepáticas aspartato amino transferase (AST) e alanina amino transferase (ALT), a bilirrubina, bem como o ácido úrico, apresentaram média ou mediana dentro da faixa de referência.

Com relação à sintomatologia clínica, 35 pacientes relataram sintomas, sendo que 29 gestantes (83%) relataram cefaléia, 15 (43%) epigastralgia, 09 (26%) escotoma e 08 (23%) reflexo patelar aumentado. Com relação à presença de edema, esse foi observado, em graus variados, em 28 gestantes, sendo + em 07 gestantes (25%), ++ em 11 (39%), +++ em 07 (25%), ++++ em 04 (4%) e edema generalizado (anasarca) em 02 (7%).

Em sete casos (12%), no grupo de gestantes com PE grave, havia gestação gemelar.

A terapia anti-hipertensiva utilizada em 55 gestantes incluiu nifedipina em 34 gestantes (62%), metildopa em 22 (40%) e hidralazina em 09 (17%). Para a prevenção das crises convulsivas foi utilizado sulfato de magnésio em 17 gestantes (31%) e para induzir a maturação pulmonar do feto, visando a interrupção da gestação, foi administrado betametasona a 17 gestantes (31%).

Apesar da internação hospitalar e tentativas terapêuticas de controle da hipertensão e das convulsões, cinco gestantes com PE grave (8,3%) evoluíram para síndrome HELLP e uma (1,7%) para eclâmpsia.

### **5.3 Avaliação de parâmetros hemostáticos**

Neste estudo foi feita a avaliação da atividade de F VIII, dos níveis plasmáticos de FvW e de ADAMTS-13. A **Tabela 3** mostra os resultados dos parâmetros hemostáticos obtidos para as gestantes dos grupos I (PE grave) e grupo II (normotensas), cujas idades gestacionais foram maiores ou iguais a 29 semanas, e do grupo III (mulheres não gestantes).

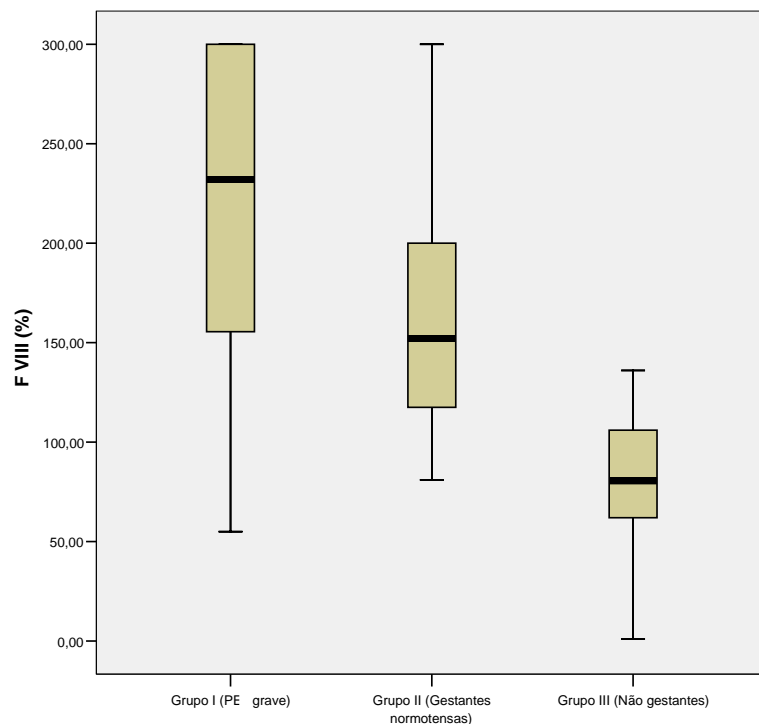
**Tabela 3 – Parâmetros hemostáticos obtidos para os grupos I e II (IG $\geq$ 29 semanas) e III.**

Parâmetros	Grupo I (n = 55)	Grupo II (n = 35)	Grupo III (n = 50)	p
F VIII (% atividade)	232 (154-300)	152 (117-200)	81 (62-106)	0,00*
FvW (mU/mL)	2270 (1779-4353)	1877 (1489-2769)	1303 (1018-1859)	0,00*
ADAMTS-13 (ng/mL)	567 (486-688)	635 (565-764)	783 (689-998)	0,00*

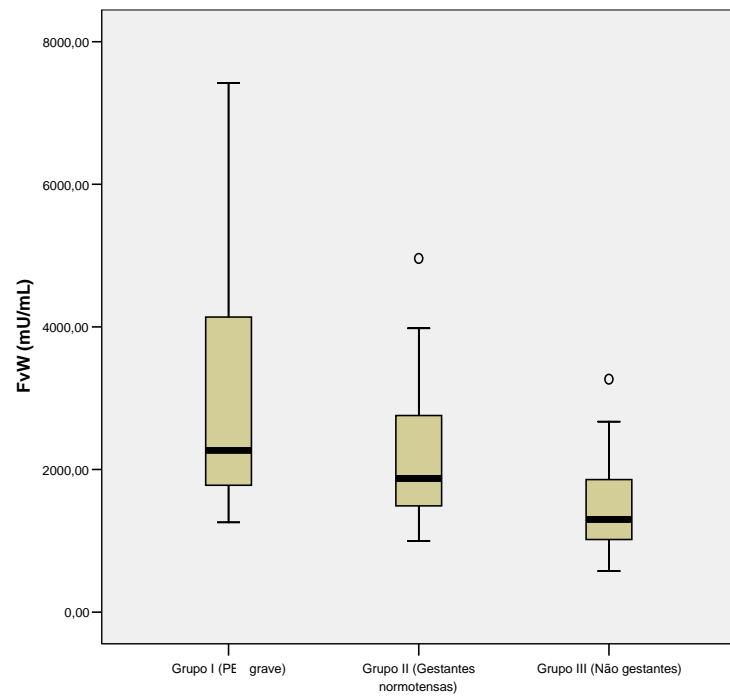
IG: Idade gestacional; F VIII: fator VIII; FvW: fator von Willebrand; ADAMTS-13: *a disintegrin and metalloprotease with eight thrombospondin-1-like domains-13*. \*p<0,05. Os dados não-paramétricos são apresentados como mediana (intervalo interquartil) (*Kruskal-Wallis*)

Grupo I - PE grave. Grupo II - Gestantes normotensas. Grupo III - Mulheres não gestantes

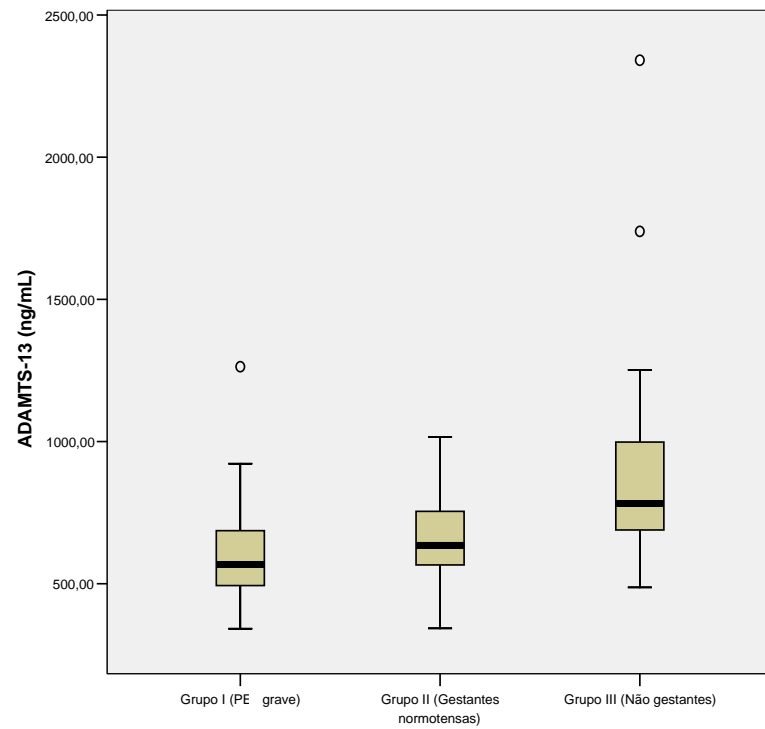
As **Figuras 9, 10 e 11** ilustram a mediana e intervalo interquartil para o F VIII, FvW e ADAMTS-13 nos grupos I e II (IG $\geq$ 29 semanas) e III, respectivamente.



**Figura 9 – Mediana e intervalo interquartil da atividade de F VIII (%) nos grupos I e II (IG $\geq$ 29 semanas) e III.**



**Figura 10 – Mediana e intervalo interquartil dos valores plasmáticos de FvW (mU/mL) nos grupos I e II (IG $\geq$ 29 semanas) e III.**



**Figura 11 – Mediana e intervalo interquartil dos valores plasmáticos de ADAMTS-13 (ng/mL) nos grupos I e II (IG $\geq$ 29 semanas) e III.**

A comparação estatística da atividade do F VIII e dos níveis plasmáticos de FvW e de ADAMTS-13, nos três grupos, mostrou que para F VIII, FvW e ADAMTS-13, as medianas foram significativamente diferentes nos três grupos estudados ( $p=0,00$  nos três casos).

Para F VIII e FvW, foram obtidos valores decrescentes nos grupos I e II ( $IG \geq 29$  semanas) e III. Para ADAMTS-13, os valores foram crescentes nos grupos I, II e III.

A comparação da atividade de F VIII nos grupos I e II revelou valor significativamente aumentado no grupo I ( $p=0,01$ ). Os níveis plasmáticos de FvW também mostraram-se significativamente aumentados no grupo I, comparado com o grupo II ( $p=0,05$ ). Os valores de ADAMTS-13 foram significativamente menores no grupo I ( $p=0,02$ ) em relação ao grupo II.

A comparação da atividade do F VIII e dos níveis plasmáticos de FvW, nos grupos I e III mostrou valores superiores no grupo I ( $p=0,00$ , em ambos os casos). Para ADAMTS-13 os valores obtidos foram menores no grupo I ( $p=0,00$ ).

Comparando-se os grupos II e III, foram observados um aumento da atividade do F VIII e dos níveis plasmáticos de FvW no grupo II ( $p=0,00$  em ambos os casos). Para ADAMTS-13 os valores do grupo II mostraram-se diminuídos ( $p=0,00$ ).

Os valores da atividade de F VIII, dos níveis plasmáticos de FvW e de ADAMTS-13 nos grupos I e II (com idade gestacional menor que 29 semanas) e III estão apresentados na **Tabela 4**.

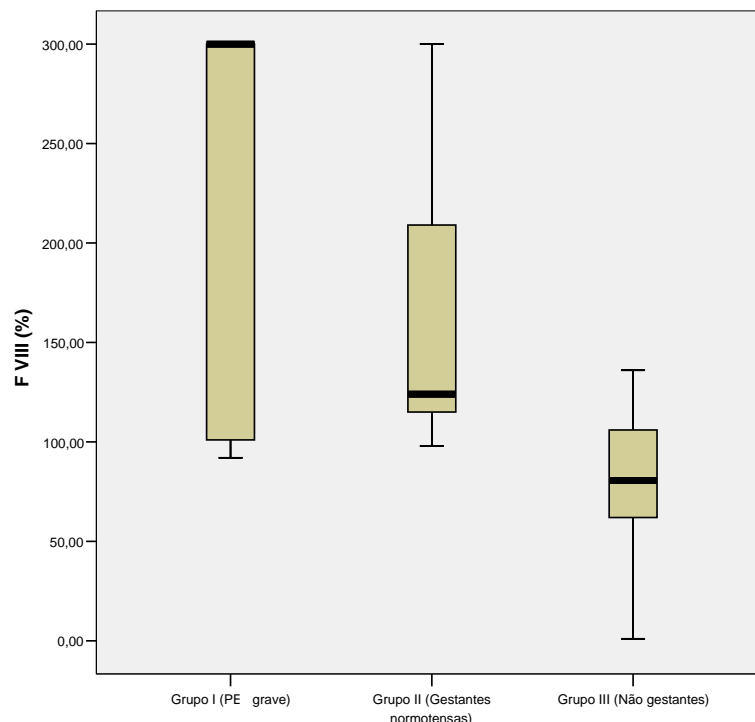
**Tabela 4 – Parâmetros hemostáticos obtidos para os grupos I e II (IG<29 semanas) e III.**

Parâmetros	Grupo I (n=5)	Grupo II (n=15)	Grupo III (n=50)	p
F VIII (% atividade)	300 (97-300)	124 (114-277)	81 (62-106)	0,00*
FvW (mU/mL)	2954 (1927-3834)	3139 (1536-3790)	1303 (1018-1859)	0,00*
ADAMTS-13 (ng/mL)	494 (412-519)	630 (514-697)	783 (689-998)	0,00*

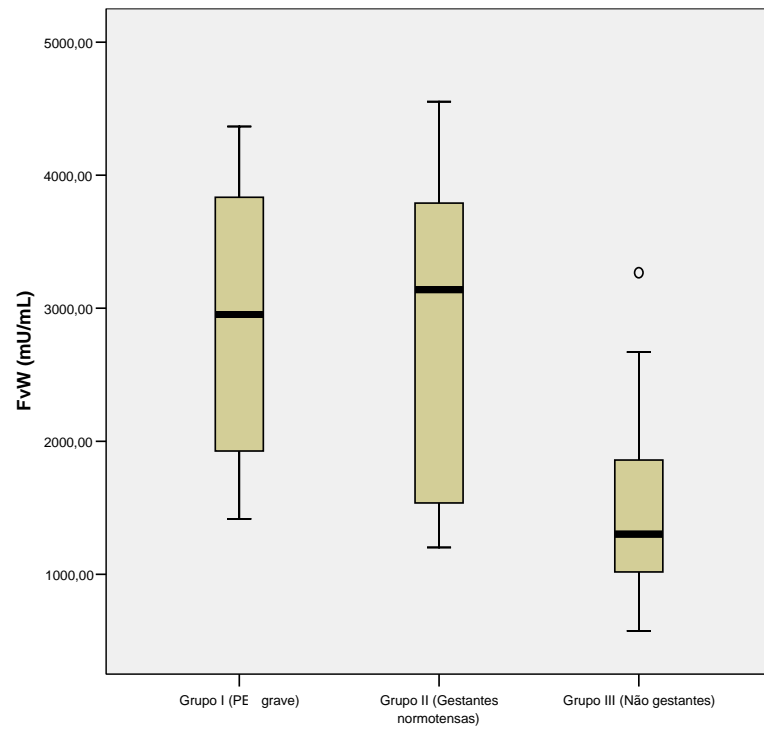
IG: Idade gestacional; F VIII: fator VIII; FvW: fator von Willebrand; ADAMTS-13: *a disintegrin and metalloprotease with eight thrombospondin-1-like domains-13*. \* $p < 0,05$ . Os dados não-paramétricos são apresentados como mediana (intervalo interquartil) (*Kruskal-Wallis*).

Grupo I - PE grave. Grupo II - Gestantes normotensas. Grupo III - Mulheres não gestantes

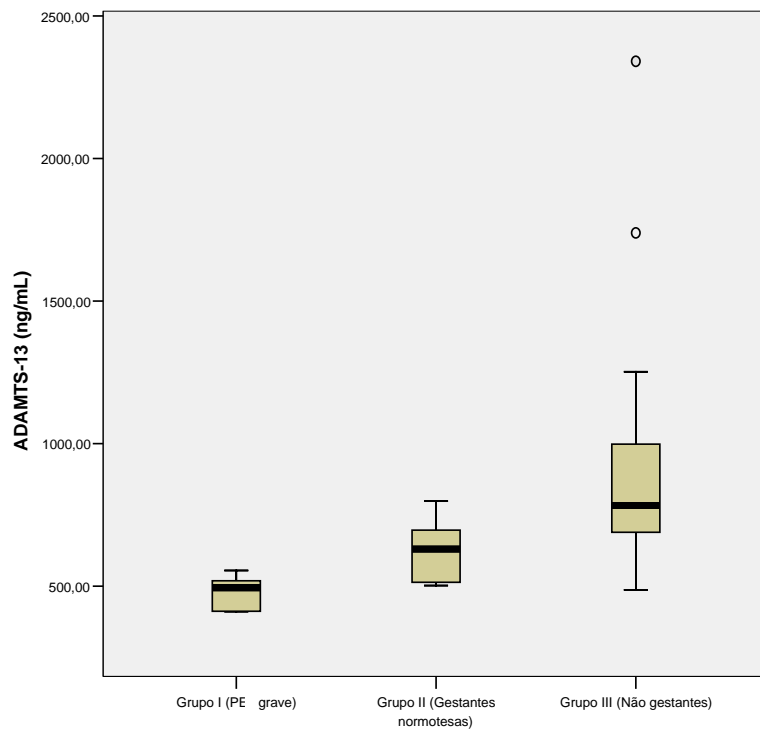
As **Figuras 12, 13 e 14** ilustram a mediana e intervalo interquartil para o F VIII, FvW e ADAMTS-13 nos grupos I e II (IG<29 semanas) e III, respectivamente.



**Figura 12 – Mediana e intervalo interquartil da atividade de F VIII (%) nos grupos I e II (IG<29 semanas) e III.**



**Figura 13 – Mediana e intervalo interquartil dos valores plasmáticos de FvW (mU/mL) nos grupos I e II (IG<29 semanas) e III.**



**Figura 14 – Mediana e intervalo interquartil dos valores plasmáticos de ADAMTS-13 (ng/mL) nos grupos I e II (IG<29 semanas) e III.**

A comparação da atividade do F VIII e dos níveis plasmáticos de FvW e de ADAMTS-13, nos três grupos, mostrou que para os três parâmetros as medianas foram significativamente diferentes nos três grupos estudados ( $p=0,00$ , nos três casos).

Para F VIII foram obtidos valores decrescentes das medianas nos grupos I e II (IG<29 semanas) e III. Para o FvW, a mediana foi maior no grupo II e para ADAMTS-13, os valores das medianas foram crescentes nos grupos I, II e III.

A comparação da atividade de F VIII e dos níveis plasmáticos de FvW nos grupos I e II não mostrou diferença ( $p=0,73$  e  $p=0,97$ , respectivamente). Os valores de ADAMTS-13 foram significativamente menores no grupo I ( $p=0,02$ ) em relação ao grupo II.

A comparação da atividade do F VIII e dos níveis plasmáticos de FvW nos grupos I e III mostrou valores superiores no grupo I ( $p=0,00$ , em ambos os casos). Para ADAMTS-13 os valores obtidos foram menores no grupo I ( $p=0,00$ ).

Comparando-se os grupos II e III, foram observados um aumento da atividade do F VIII e dos níveis plasmáticos de FvW no grupo II ( $p=0,00$ , em ambos os casos). Para ADAMTS-13 os valores do grupo II mostraram-se diminuídos ( $p=0,00$ ).

#### 5.4 Frequência do grupo sanguíneo ABO nas integrantes do estudo

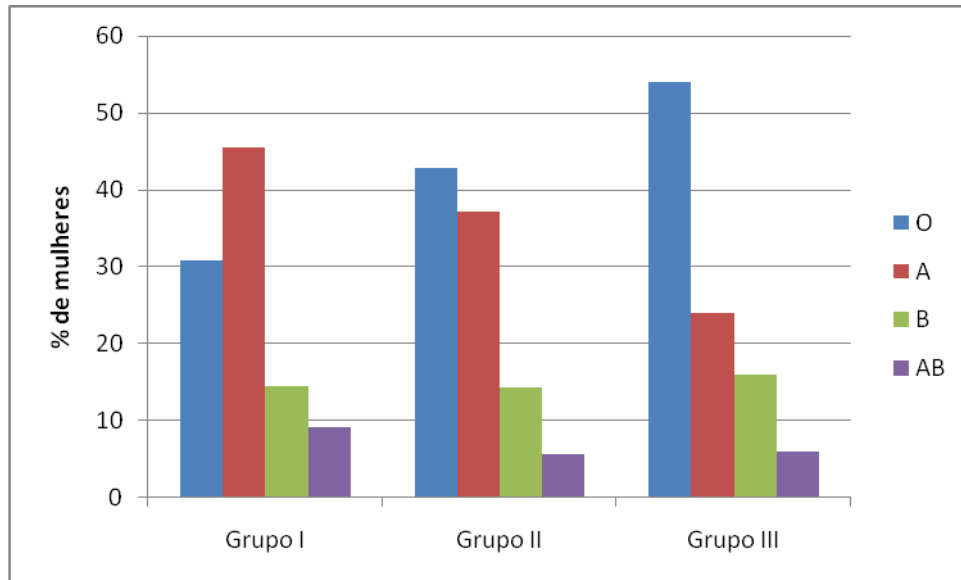
As frequências dos grupos sanguíneos do sistema ABO nos grupos I, II e III estão apresentadas na **Tabela 5** e na **Figura 15**.

**Tabela 5 – Frequência dos grupos sanguíneos do sistema ABO nos grupos I, II e III.**

Grupo sanguíneo	Grupo I (n = 60)	Grupo II (n = 50)	Grupo III (n = 50)
O	19 (31,7%)	18 (36,0%)	27 (54,0%)
A	27 (45,0%)	23 (46,0%)	12 (24,0%)
B	09 (15,0%)	06 (12,0%)	08 (16,0%)
AB	05 (08,3%)	03 (06,0%)	03 (06,0%)
“não O”	41 (68,3%)	32 (64%)	23 (46,0%)



A comparação da frequência dos grupos sanguíneos entre as gestantes com PE grave e normotensas, não mostrou diferença ( $p=0,69$ ;  $p=1,00$ ;  $p=0,78$  e  $p=0,73$ , para os grupos O, A, B e AB, respectivamente).



**Figura 15 - Distribuição dos grupos sanguíneos nas integrantes dos grupos I, II e III**

A análise da **Figura 15** mostra que para as gestantes com PE grave e normotensas observou-se maior frequência do grupo A, seguida de forma decrescente, pela frequência dos grupos O, B e AB. Para as mulheres não gestantes observou-se maior frequência do grupo sanguíneo O seguida de forma decrescente pela frequência dos grupos A, B e AB, o que está de acordo com a frequência dentre os doadores cadastrados na Fundação Hemominas/Belo Horizonte.

#### **5.4.1 Relação do grupo sanguíneo ABO e dos parâmetros hemostáticos**

As integrantes do estudo foram distribuídas de acordo com o grupo sanguíneo em duas categorias O e “não O” (que incluiu mulheres A, B e AB). Visando avaliar a associação entre os parâmetros hemostáticos e as categorias O e “não O”, foi feita a comparação da atividade de F VIII, dos níveis plasmáticos de FvW e de ADAMTS-13, como mostra a **Tabela 6**.

**Tabela 6 – Parâmetros hemostáticos avaliados nas integrantes dos grupos sanguíneos O e “não O”.**

Parâmetros	Grupo O	Grupo “não O”	p
F VIII	117 (72-185)	139 (103-277)	0,01*
FvW	1615 (1260-2543)	2118 (1533-3136)	0,00*
ADAMTS-13	668 (567-824)	642 (516-772)	0,13

F VIII: Fator VIII; FvW: Fator von Willebrand; ADAMTS-13: *a disintegrin and metalloprotease with eight thrombospondin-1-like domains-13*. \* $p < 0,05$ . Os dados não paramétricos são apresentados como mediana (intervalo interquartil).

A atividade de F VIII e os níveis plasmáticos de FvW mostraram-se diminuídos nas mulheres do grupo sanguíneo O em relação àquelas do grupo sanguíneo “não O” ( $p=0,01$  e  $p=0,00$ , respectivamente). Os níveis plasmáticos de ADAMTS-13 não foram diferentes comparando-se os grupos sanguíneos O e “não O” ( $p=0,13$ ).

A **Tabela 7** mostra a comparação dos parâmetros hemostáticos nos grupos I ( $n=55$ ) e II ( $n=35$ ), com idade gestacional maior ou igual 29 semanas, e grupo III segundo o grupo sanguíneo O e “não O”.

**Tabela 7 – Parâmetros hemostáticos das integrantes dos grupos I e II (IG≥29 semanas) e III, segundo o grupo sanguíneo O e “não O”.**

Parâmetros/Grupos		Grupos sanguíneos		p
		O	“Não O”	
F VIII (%)	Grupo I	187 (117-300)	254 (180-300)	0,29
	Grupo II	144 (128-199)	159 (117-250)	0,86
	Grupo III	72 (60-106)	95 (84-114)	0,01*
FvW (mU/mL)	Grupo I	1972 (1644-2766)	2350 (1890-4885)	0,21
	Grupo II	1849 (1351-2530)	1998 (1509-3031)	0,48
	Grupo III	1323 (899-1858)	1936 (1145-2606)	0,04*
ADAMTS-13 (ng/mL)	Grupo I	567 (505-665)	578 (486-688)	0,85
	Grupo II	627 (594-683)	659 (561-769)	0,63
	Grupo III	751 (632-970)	725 (604-962)	0,85

F VIII: Fator VIII; FvW: Fator von Willebrand; ADAMTS-13: *a disintegrin and metalloprotease with eight thrombospondin-1-like domains-13*. \* $p < 0,05$ . Os dados não-paramétricos são apresentados como mediana (intervalo interquartil) (*Mann-Whitney*).

Um aumento significativo da atividade de F VIII e dos níveis de FvW, dentre as mulheres não gestantes (grupo III) “não O”, comparando-se àquelas do grupo O, foi observado ( $p=0,01$  e  $p=0,04$ , respectivamente).

A atividade de F VIII entre gestantes com PE grave e normotensas com idade gestacional  $\geq 29$  semanas (grupo I e II, respectivamente) pertencentes ao grupo sanguíneo O não diferiu daquela obtida para as “não O” ( $p=0,29$  e  $p = 0,86$ , respectivamente).

Para os valores de FvW, também não foram observadas diferenças, comparando-se as gestantes com PE grave e normotensas pertencentes ao grupo sanguíneo O e “não O” ( $p=0,21$  e  $p=0,48$ , respectivamente).

Para os valores de ADAMTS-13 não foram observadas diferenças significativas ao comparar as integrantes dos grupos I e II e III, do grupo O e “não O” ( $p=0,85$ ,  $p=0,63$  e  $p=0,85$ , respectivamente).

A comparação da atividade de F VIII e dos níveis de FvW e de ADAMTS-13 entre as gestantes com PE grave e normotensas, pertencentes apenas ao grupo O,

revelou que não houve diferença para nenhum desses parâmetros ( $p=0,28$ , nos três casos).

Para as gestantes com PE grave e normotensas, pertencentes apenas ao grupo “não O”, foi obtida diferença para a atividade de F VIII e níveis de ADAMTS-13 ( $p=0,05$  e  $p=0,03$ , respectivamente), sendo a atividade de F VIII maior e os níveis de ADAMTS-13 menores no primeiro grupo. Para os níveis de FvW não foi obtida diferença ( $p=0,11$ ).

A **Tabela 8** mostra a comparação dos parâmetros hemostáticos nos grupos I ( $n=5$ ) e II ( $n=15$ ), com idade gestacional menor que 29 semanas, segundo o grupo sanguíneo O e “não O”.

**Tabela 8 – Parâmetros hemostáticos das integrantes dos grupos I e II (IG<29 semanas), segundo o grupo sanguíneo O e “não O”.**

Parâmetros/Grupos		Grupos sanguíneos		p
		O	“Não O”	
F VIII (%)	Grupo I	300 e 300	101 (97-201)	0,40
	Grupo II	139 (129-220)	122 (111-209)	0,45
FvW (mU/mL)	Grupo I	1927 e 2954	3834 (2625-4100)	0,80
	Grupo II	3740 (3425-3791)	2671 (1480-3649)	0,45
ADAMTS-13 (ng/mL)	Grupo I	525 e 494	412 (412-466)	0,40
	Grupo II	657 (610-728)	596 (512-694)	0,23

F VIII: Fator VIII; FvW: Fator von Willebrand; ADAMTS-13: *a disintegrin and metalloprotease with eight thrombospondin-1-like domains-13*. \* $p < 0,05$ . Os dados não-paramétricos são apresentados como mediana (intervalo interquartil) (*Mann-Whitney*).

A atividade de F VIII, dos níveis de FvW e de ADAMTS-13 não foi significativamente diferente comparando-se as gestantes com PE grave e normotensas com idade gestacional menor que 29 semanas segundo grupo sanguíneo O e “não O”.

A comparação da atividade de F VIII e dos níveis de FvW e de ADAMTS-13 entre as gestantes com PE grave e normotensas, pertencentes isoladamente ao grupo O ou “não O”, revelou que não houve diferença para nenhum desses parâmetros ( $p=0,40$ ,  $0,20$  e  $0,20$ , respectivamente para o grupo O;  $p=0,45$ ,  $0,63$  e  $0,07$ , respectivamente para o grupo “não O”).

#### **5.4.2 Análise multivariada dos parâmetros clínicos, hemostáticos e sistema**

##### **ABO**

A fim de avaliar a associação dos parâmetros clínicos, hemostáticos e sistema ABO com o desenvolvimento da PE, foi primeiramente realizada uma análise univariada, considerando a presença e ausência de PE como variável dependente. Os parâmetros analisados nesse primeiro momento estão representados na **Tabela 9**.

**Tabela 9 – Análise univariada, considerando PE grave como variável dependente.**

Parâmetro	p	Parâmetro	p
Idade	0,25	Grupo ABO	0,81
Gravidez múltipla	1,00	O e “não O”	0,63
Gravidez	0,86	F VIII	0,00*
Aborto	0,25	FvW	0,09*
GPG	0,09*	ADAMTS-13	0,00*

GPG: Ganho de peso na gestação; F VIII: Fator VIII; FvW: Fator von Willebrand; ADAMTS-13: *a disintegrin and metalloprotease with eight thrombospondin-1-like domains-13*. \* $p < 0,20$ .

Os parâmetros, que seguiram o critério acima indicado ( $p < 0,20$ ), foram avaliados segundo o modelo de regressão logística multivariada. Foi observada a associação independente das variáveis: F VIII, FvW e ADAMTS-13 com a PE grave, conforme demonstrado na **Tabela 10**. Vale ressaltar que o modelo proposto foi adequado segundo a análise de *Hosmer e Lemeshow* ( $p=0,58$ ).

**Tabela 10 – Modelo de regressão logística múltipla, considerando como variável dependente PE grave.**

Parâmetros	p	Odds Ratio	IC
F VIII	0,01*	4,02	1,53-10,55
FvW	0,01*	3,88	1,45-10,39
ADAMTS-13	0,00*	8,77	2,40-32,06

F VIII: Fator VIII; FvW: Fator von Willebrand; ADAMTS-13: *a disintegrin and metalloprotease with eight thrombospondin-1-like domains-13*; IC Intervalo de confiança \* $p < 0,05$ .

De acordo com a **Tabela 10**, pode-se concluir que a atividade de F VIII superior a 150% confere uma chance 4,02 vezes maior do desenvolvimento de PE grave. Da mesma forma, níveis de FvW superiores a 1859 mU/mL aumentam em 3,88 vezes a chance de uma gestante desenvolver PE grave. Para ADAMTS-13, níveis abaixo de 630 ng/mL elevam em 8,77 vezes a chance de ocorrência da doença.

## **6 DISCUSSÃO**

## 6.1 Considerações gerais

A despeito da gravidade da PE, a etiologia e fisiopatologia dessa doença ainda não estão bem estabelecidas. Uma grande limitação aos estudos referentes à PE é representada pela dificuldade do seu diagnóstico.

O sucesso do diagnóstico clínico da PE depende essencialmente do cuidado com que se procura obtê-lo, incluindo uma anamnese bem feita, visando encontrar qualquer evidência na história pregressa da paciente de fatos que possam sugerir uma lesão renal primária, bem como um exame clínico-laboratorial rigoroso, valorizando não somente os critérios para o diagnóstico de PE, mas também incluindo uma completa avaliação da função renal.

LINDHEIMER (1975) assinala que a análise de material obtido por biópsia renal revelou a presença de outras doenças renais em 20 a 40% dos casos diagnosticados como PE o que, entre outras implicações, pode levar ao erro de diagnóstico e à falta de acompanhamento médico no seguimento pós-parto de outras doenças confundidas com PE. Além disso, resulta na obtenção de conclusões errôneas em pesquisas sobre o tema.

Um estudo realizado no Hospital das Clínicas/UFMG/Belo Horizonte, onde foram comparados o diagnóstico clínico da PE e os resultados obtidos por microscopia ótica de material de biópsia renal, revelou um acerto diagnóstico na totalidade dos casos estudados (RIO, 1996). A discordância destes resultados em relação aos da literatura mundial provavelmente está associada às características epidemiológicas dos grupos analisados (raça, ambiente, alimentação, etc.). Resultados semelhantes foram anteriormente obtidos por BARROS (1987) em um estudo realizado em São Paulo, que revelou apenas 4,2% de nefropatia nos casos diagnosticados como PE.

Considerando a padronização dos critérios de diagnóstico de PE, tanto na Maternidade Odete Valadares, como na Maternidade do Hospital Público Regional de Betim, e a rigidez no seguimento dos critérios de inclusão e exclusão, eliminando deste estudo todos os casos duvidosos, a segurança do diagnóstico correto dos casos incluídos é grande.

Ainda com relação ao diagnóstico, nenhum marcador laboratorial que apresente a relação custo-efetividade favorável foi proposto nas últimas décadas,



sendo esse feito essencialmente com base nos dados clínicos, medida da pressão arterial e determinação da proteinúria.

A literatura revela que indivíduos dos grupos sanguíneos “não O” apresentam níveis plasmáticos mais elevados de F VIII e FvW que aqueles do grupo O (KAMPHUISEN *et al.*, 2001; MORELLI *et al.*, 2005; SOUSA *et al.*, 2007).

Orstavik *et al.* (1985) observaram que 66% das variações nos níveis plasmáticos do FvW foram resultantes de alterações genéticas e que 30% dessas alterações estavam relacionadas ao efeito dos grupos sanguíneos ABO.

Diversos estudos têm sugerido uma associação do grupo sanguíneo ABO e fenômenos trombóticos (KOSTER *et al.*, 1995; MORELLI *et al.*, 2005; TIRADO *et al.*, 2005). Sabe-se que a PE cursa com um estado de hipercoagulabilidade ainda mais exacerbado que na gravidez normal, o que justifica a investigação do F VIII, FvW e do grupo sanguíneo nesta doença.

Um mecanismo envolvido na regulação dos níveis plasmáticos de FvW envolve a ação da enzima ADAMTS-13, que promove a clivagem desse fator. Dessa forma, a avaliação desta enzima foi também incluída neste estudo.

## **6.2 Características clínicas dos grupos avaliados**

No presente estudo foram avaliadas 160 mulheres, sendo 60 (37,50%) gestantes com PE grave (Grupo I), 50 (31,25%) gestantes normotensas (Grupo II) e 50 (31,25%) mulheres não gestantes (Grupo III). As mulheres não gestantes pertenciam a mesma classe social das gestantes, uma vez que estudos sugerem que fatores ambientais estão associados à ocorrência de PE (CUNNINGHAM *et al.*, 2000; REZENDE *et al.*, 2005).

As gestantes com PE grave foram selecionadas na Maternidade Odete Valadares/Belo Horizonte-MG e na Maternidade do Hospital Público Regional de Betim/MG. As gestantes normotensas e mulheres não gestantes foram selecionadas na Unidade Básica de Saúde da Família (UBSF) Guabanara/Betim-MG.

A análise das características clínicas das participantes dos grupos avaliados (**Tabela 1**) revelou que não houve diferença significativa comparando-se a idade e o índice de massa corporal das integrantes dos três grupos ( $p=0,25$  em ambos os casos). A literatura revela maior ocorrência de PE na gravidez múltipla (BDOLAH *et al.*, 2008; DUCKITT *et al.*, 2005) Sete das gestantes com PE grave deste estudo

apresentavam gravidez gemelar, o que não foi constatado em nenhuma das gestantes normotensas.

A comparação das gestantes com PE grave e normotensas revelou que não houve diferenças significativas na idade gestacional ( $p=0,06$ ), no número de gestações ( $p=0,57$ ) e número de abortos ( $p=0,37$ ). Estudos revelam que a PE ocorre com maior frequência em mulheres nulíparas (CUNNINGHAM *et al.*, 2000; SIBAI *et al.*, 1995; YOUNG *et al.*, 2010). No entanto, no presente estudo, embora a mediana do número de gestação tenha sido maior no grupo de gestantes normotensas (2,0) em relação à obtida para gestantes com PE grave (1,0), essa diferença não foi significativa ( $p=0,57$ ).

A idade gestacional não foi diferente comparando-se os dois grupos de gestantes ( $p=0,06$ ). No entanto, sabendo que fisiologicamente ocorre um aumento progressivo do estado de hipercoagulabilidade ao longo da gestação, neste estudo optou-se por reclassificar as gestantes segundo o período da gestação: idade gestacional igual ou maior que 29 semanas e idade gestacional menor que 29 semanas. A definição desse ponto de corte em 29 semanas foi feita com base no estudo de Thornton e Bonnar (1977).

O ganho de peso na gestação (GPG) foi significativamente maior nas gestantes com PE, comparando-se às normotensas ( $p=0,00$ ). CUNNINGHAM *et al.*, (2000) relataram que um aumento de peso na gestação de aproximadamente 500 g por semana é considerado normal, mas quando o ganho ponderal é maior que 1 kg em qualquer semana, ou 3 kg em um mês, deve-se suspeitar de PE. O caráter súbito do ganho de peso, ao invés de um aumento distribuído ao longo da gestação, é característico dessa doença. O ganho ponderal é quase totalmente devido à retenção hídrica excessiva e, geralmente, é demonstrável antes de sinais vitais visíveis de edema. No entanto, é importante lembrar que o edema é um achado frequente na gestação e sua presença não deve confirmar, portanto, o diagnóstico de PE. Da mesma forma, a ausência de edema não exclui o diagnóstico.

A comparação dos níveis pressóricos revelou um aumento significativo desses nas gestantes com PE grave, em relação às gestantes normotensas e mulheres não gestantes ( $p=0,00$  para PA sistólica e distólica). Este fato era esperado, uma vez que níveis pressóricos  $\geq 160/110$ mmHg em, pelo menos duas ocasiões, constituíram um dos critérios de inclusão das gestantes com PE grave.

Uma diminuição significativa dos níveis pressóricos nas gestantes normotensas quando comparadas às mulheres não gestantes ( $p=0,01$  para PA sistólica e distólica) está de acordo com relatos da literatura. Fisiologicamente há um aumento do ritmo cardíaco, uma diminuição sistêmica da resistência vascular, um aumento do volume sanguíneo, do fluxo renal e da filtração glomerular. Apesar do ritmo cardíaco e do volume sanguíneo, ocorre uma diminuição da pressão arterial durante o segundo trimestre e início do terceiro, período gestacional em que se encontravam as gestantes normotensas incluídas neste estudo (DELASCIO, 1983; REISS *et al.*, 1987).

Cinco gestantes com PE grave (8,3%) evoluíram para síndrome HELLP e uma (1,7%) para eclâmpsia, apesar da internação hospitalar e tentativa terapêuticas de controle da hipertensão e das convulsões.

Das 60 gestantes com PE grave, 35 relataram sintomas clínicos, sendo a cefaléia a mais frequente (83% dos casos), seguida da epigastralgia (43%), escotoma (26%) e reflexo patelar aumentado (23%). Acredita-se que a cefaléia e o escotoma estejam relacionados ao vasoespasmó das arteríolas cerebrais e retiniana, respectivamente. A epigastralgia provavelmente resulta de necrose hepatocelular, do edema e isquemia que distende a cápsula de Glisson (CUNNINGHAM *et al.*, 2000).

### **6.3 Parâmetros hematológicos e bioquímicos**

A monitoração do hemograma e da contagem de plaquetas, da função hepática (pela determinação de AST, ALT), de bilirrubinas, desidrogenase láctica (LDH) e do ácido úrico é feita para avaliar a gravidade e evolução da PE (BURTIS *et al.*, 2008).

A bilirrubina é um produto do metabolismo do grupo heme da molécula de hemoglobina que ocorre no sistema retículo-endotelial e constitui um marcador de hemólise, bem como de lesão hepática (BURTIS *et al.*, 2008).

Um dos desfechos da PE é a síndrome HELLP, que cursa com hemólise, alteração das enzimas hepáticas e redução do número de plaquetas circulantes.

Os resultados de parâmetros hematológicos e bioquímicos das gestantes com PE grave, coletados dos prontuários médicos, mostraram média ou mediana dos

valores do hemograma, enzimas hepáticas AST e ALT, bilirrubina total, direta e indireta e ácido úrico dentro da faixa de referência (**Tabela 2**).

A enzima LDH catalisa a conversão de lactato a piruvato e é um marcador de dano celular. Níveis elevados dessa enzima são observados na lesão vascular (BOWMAN *et al.*, 1983), na hemólise, inflamações, traumas e hepatites (BURTIS *et al.*, 2008). A mediana dos níveis de LDH (361; 270-488) nas gestantes com PE grave foi superior ao nadir da faixa de referência (100-190U/L). Este aumento provavelmente reflete a lesão endotelial observado nesta doença, uma vez que vários estudos têm relatado um aumento plasmático de marcadores de lesão endotelial na PE (BOFFA *et al.*, 1998, DUSSE *et al.*, 2007; HSU *et al.*, 1993, 1995; MINAKAMI *et al.*, 1993).

No presente estudo, cinco gestantes com PE grave (8,3%) evoluíram para síndrome HELLP e tiveram os seguintes resultados dos marcadores de hemólise, LDH (não obtido, 312, 317, 1393 e 430 U/L); de função hepática; AST (28, 93, 64, 63 e 14 U/L); ALT (13, 91, 52, 59 e 15 U/L), e limiar inferior da contagem de plaquetas ( $237, 82, 170, 32$  e  $141 \times 10^3$ ). Considerando que o limiar superior de normalidade de LDH é 190 U/mL, da AST e ALT é 35 U/mL e da contagem de plaquetas é  $150 \times 10^3$ /mL, esses resultados mostram uma tendência às alterações próprias desta síndrome.

A média dos valores da contagem de plaquetas ( $187 \times 10^3$ /mL $\pm 9$ ) foi próxima ao limiar inferior da normalidade. Diversos estudos na literatura relatam uma plaquetopenia na PE (CADROY *et al.*, 1993; CARON *et al.*, 1991; DUBE *et al.*, 1975; DUSSE, 1999). No entanto, no presente estudo, não foi possível fazer a comparação da contagem de plaquetas entre os grupos avaliados, uma vez que este parâmetro não foi obtido para os grupos II e III. Cumpre ressaltar que 17 (28,3%) gestantes apresentaram valores menores que o nadir da faixa de referência ( $150 \times 10^3$ /mL), sendo que cinco (8,3%) apresentaram valores muito reduzidos (32, 66, 78, 80 e  $82 \times 10^3$ /mL).

Um dos critérios de inclusão das gestantes com PE grave neste estudo foi proteinúria superior a 2g/24 horas ou ++ pelo método semi-quantitativo da fita. No entanto, duas pacientes apresentaram proteinúria negativa e duas apresentaram + pelo método semi-quantitativo, mas com base nos níveis pressóricos e na sintomatologia clínica, essas foram classificadas pela equipe obstétrica como portadoras de PE grave.

## 6.4 Parâmetros hemostáticos

Neste estudo foram avaliados a atividade do F VIII, os níveis plasmáticos de FvW e de ADAMTS-13.

O F VIII desempenha um papel crucial na fase de propagação da ativação da coagulação. Uma vez formado o complexo F IXa/F VIIIa, ocorre a ativação do F X que, por sua vez, ativará outros fatores, culminando com a formação do coágulo de fibrina (HOFFMAN, 2003; HOFFMAN & MONROE, 2006).

Sabe-se que o FvW constitui o mediador da adesão das plaquetas aos componentes do subendotélio e é o carreador do F VIII no plasma prevenindo, dessa forma, o *clearance* desse fator e favorecendo a geração de trombina (OUVINA *et al.*, 2001; RUGGERI, 2003; SUMPIO *et al.*, 2002,).

A deficiência de ADAMTS-13 (que promove a clivagem do FvW), bem como a presença de anticorpos contra essa enzima, resulta no aumento plasmático desse fator e, conseqüentemente, favorece a ocorrência de trombose em vasos de pequeno calibre (RIEGER *et al.*, 2005; RUGGERI, 2003)

A análise da atividade do F VIII revelou diferença comparando-se simultaneamente os grupos I, II, (com idade gestacional  $\geq 29$  semanas) e III ( $p=0,00$ ), como mostra a **Tabela 3**. A atividade do F VIII no grupo I foi maior que nos grupos II ( $p=0,01$ ) e III ( $p=0,00$ ). Comparando-se os grupos II e III, a atividade foi maior no grupo II ( $p=0,00$ ).

Os níveis plasmáticos do FvW também mostraram-se aumentados no grupo I seguido pelos grupo II e III ( $p=0,00$ ), como mostra a **Tabela 3**. Diferenças foram obtidas ao comparar o FvW nos grupos I e II ( $p=0,05$ ), I e III ( $p=0,00$ ) e II e III ( $p=0,00$ ).

Os níveis plasmáticos de ADAMTS-13 foram significativamente menores no grupo I seguido pelos grupos II e III ( $p=0,00$ ), conforme a **Tabela 3**. Diferenças foram obtidas para ADAMTS-13 comparando-se os grupos I e II ( $p=0,02$ ), I e III ( $p=0,00$ ) e II e III ( $p=0,00$ ).

Sabe-se que a gravidez normal está associada a alterações complexas da hemostasia que resultam em um estado de hipercoagulabilidade. Considerando-se que o fluxo placentário em um embrião de sete semanas é de cerca de 50 mL/minuto e em um feto a termo é de 800-1000 mL/minuto e, considerando-se

ainda que esse aporte sanguíneo é bruscamente interrompido no momento do parto, é razoável admitir que as modificações do sistema hemostático que ocorrem ao longo da gravidez visem uma ação eficaz na zona de inserção placentária no momento do parto de modo a prevenir uma hemorragia excessiva e manter um funcionamento normal da placenta (BRENNER, 2004; O'RIORDAN *et al.*, 2003).

Estudos revelam que o estado de hipercoagulabilidade fisiológico da gravidez resulta do aumento dos fatores da coagulação que são dependentes da vitamina K (II, VII, IX e X), do F VIII e do fibrinogênio (BONNAR *et al.*, 1970; GILBERT *et al.*, 1995; STIRLING *et al.*, 1984).

Em concordância com os dados da literatura, no presente estudo foi obtido um aumento da atividade de F VIII e dos níveis de FvW nas gestantes com PE grave em relação às normotensas e as mulheres não gestantes. Estes dados reforçam a assertiva do estado de hipercoagulabilidade ainda mais acentuado na PE que aquele observado na gravidez normal. De fato, neste estudo foi observado um aumento da atividade do F VIII e de FvW nas gestantes normotensas, comparando-se às mulheres não gestantes, confirmando o estado de hipercoagulabilidade fisiológico da gravidez. Um aumento de F VIII (BONNAR *et al.*, 1970; GILBERT *et al.*, 1995; STIRLING *et al.*, 1984) e de FvW (BRENNER, 2004) em gestantes normotensas foi previamente relatado.

Thornton e Bonnar (1977) obtiveram um aumento da razão F VIII antígeno: atividade F VIII em gestantes com PE grave em comparação com gestantes normotensas e associaram essa razão à gravidade da doença. A reavaliação desta razão uma semana após o parto revelou uma diminuição intensa da mesma, confirmando o caráter transitório da hipercoagulabilidade na PE.

Considerando ainda que o F VIII constitui uma proteína de fase aguda e que a PE está associada a um processo inflamatório (REDMANN *et al.*, 1999, 2003), essa condição, pode corroborar para a elevação da atividade desse fator.

De Boer *et al.* (1989) e España *et al.* (1991) relataram um comprometimento da anticoagulação natural pela via da proteína C em gestantes com PE. Sabe-se que a ação da proteína C inclui a inativação dos fatores V e VIII, o que também justificaria o aumento do F VIII nessa doença.

Em concordância com os resultados do presente estudo, outros estudos também revelaram um aumento de FvW na PE (HULSTEIN *et al.*, 2006; LATTUADA *et al.*, 2003; MOLVAREC *et al.*, 2009; NADAR *et al.*, 2004).

A avaliação dos níveis de ADAMTS-13 mostrou valor significativamente diminuído no grupo I comparando-se aos grupos II ( $p=0,02$ ) e III ( $p=0,00$ ). O valor no grupo II foi menor que no grupo III ( $p=0,00$ ).

Semelhantemente aos resultados obtidos neste estudo, Lattuada *et al.* (2003) avaliaram os níveis de FvW e de ADAMTS-13 em 17 mulheres com síndrome HELLP e relataram um aumento de FvW e uma diminuição de ADAMTS-13 nessa síndrome, comparando-se às gestantes normotensas.

Hulstein *et al.* (2006) também avaliaram os níveis de FvW e a atividade de ADAMTS-13 em seis gestantes com PE (sem classificar a forma clínica) e 14 com síndrome HELLP. Esses pesquisadores observaram um aumento de FvW tanto no grupo com PE, como no grupo com síndrome HELLP em relação às gestantes normotensas. A atividade da ADAMTS-13 não mostrou diferença comparando o grupo com PE e gestante normotensas. Para o grupo com síndrome HELLP, foi obtida uma diminuição significativa da atividade dessa enzima em relação às gestantes normotensas.

Molvarec *et al.* (2009) relataram um aumento dos níveis de FvW em 67 gestantes com PE em relação às gestantes normotensas. No entanto, neste estudo não foi feita a classificação da forma clínica da doença. Estes pesquisadores também avaliaram a atividade da ADAMTS-13 e não encontraram diferença em relação às gestantes normotensas.

Os mecanismos que regulam a síntese de ADAMTS-13 não estão completamente elucidados, especialmente na gravidez, quando é possível ocorrer uma interferência hormonal. Sabendo que um estado de hipercoagulabilidade é fisiológico da gravidez, pode-se inferir que a diminuição de ADAMTS-13 tenha ocasionado um aumento de FvW. Como a hipercoagulabilidade é ainda mais acentuada na PE, é justificável admitir uma diminuição ainda maior desta enzima nesta doença.

Lattuada *et al.* (2003) mostraram que a reavaliação da atividade de ADAMTS-13, em gestantes com síndrome HELLP, seis meses após o parto, revelou que essa retornou ao normal. Dessa forma, esses pesquisadores descartaram a hipótese de um comprometimento genético da síntese desta enzima, bem como a presença de anticorpos antiADAMTS-13 (como ocorre nos pacientes com púrpura trombocitopênica trombótica). A hipótese de um *clearance* aumentado da ADAMTS-13 na síndrome HELLP não pode ser confirmada, considerando a concentração

muito reduzida dessa no plasma ( $1\mu\text{g/mL}$  ou menos), o que inviabiliza a sua purificação para avaliar tempo de meia-vida.

Um estudo recente envolvendo pacientes com disfunção renal grave revelou que os níveis de ADAMTS-13 foram significativamente reduzidos, comparando-se a indivíduos saudáveis (RIOS, 2010). No presente estudo também foram encontrados níveis reduzidos de ADAMTS-13 na PE, (que cursa disfunção renal e proteinúria). Manea *et al.* (2010) revelaram a expressão do gene responsável pela síntese dessa enzima nos rins, bem como em diversos outros tecidos. Dessa forma, torna-se importante a investigação da ADAMTS-13 em outras condições associadas à disfunção renal para elucidar esta questão.

A comparação simultânea das gestantes dos grupos I e II (com idade gestacional  $<29$  semanas) e grupo III revelou que tanto a atividade de F VIII, como os níveis plasmáticos de FvW e ADAMTS-13 foram significativamente diferentes para os três parâmetros ( $p=0,00$ , nos três casos).

Para F VIII foram obtidos valores decrescentes das medianas nos grupos I e II (IG $<29$  semanas) e III. Para o FvW, a mediana foi maior no grupo II e para ADAMTS-13, foi crescente nos grupos I, II e III.

A comparação da atividade de F VIII e dos níveis plasmáticos de FvW nos grupos I e II (IG $<29$  semanas) não mostrou diferença ( $p=0,73$  e  $p=0,97$ , respectivamente). Os valores de ADAMTS-13 foram significativamente menores no grupo I ( $p=0,02$ ) em relação ao grupo II.

A comparação da atividade do F VIII e dos níveis plasmáticos de FvW nos grupos I e III mostrou valores superiores no grupo I ( $p=0,00$ , em ambos os casos). Para ADAMTS-13 os valores obtidos foram menores no grupo I ( $p=0,00$ ).

Comparando-se os grupos II e III, foram observados um aumento da atividade do F VIII e dos níveis plasmáticos de FvW no grupo II ( $p=0,00$ , em ambos os casos). Para ADAMTS-13 os valores do grupo II mostraram-se diminuídos ( $p=0,00$ ).

A ausência de diferenças significativas entre F VIII e FvW nas gestantes com PE e normotensas (IG $<29$  semanas), pode ser explicada pelo fato da hipercoagulabilidade ser crescente ao longo da gestação. Dessa forma, é possível inferir que antes de 29 semanas a diferença entre os valores de F VIII e FvW não seja evidente, mas no terceiro trimestre de gestação seria detectada. De fato, no presente estudo a diferença entre o F VIII e FvW foi confirmada no terceiro trimestre,



pela comparação dos grupos I e II, com idade gestacional maior ou igual a 29 semanas.

Para a ADAMTS-13, foram observados níveis menores no grupo I em relação ao II. No entanto, não há subsídio na literatura que discutam a performance desta enzima com a evolução da gravidez.

## 6.5 Grupo sanguíneo ABO

No presente estudo foi investigada a distribuição do grupo sanguíneo do sistema ABO nas mulheres avaliadas.

Para as mulheres não gestantes foi obtida uma distribuição similar àquela observada para os doadores de sangue cadastrados na Fundação Hemominas-Belo Horizonte/Minas Gerais, em 2006 (**Quadro 1**). No entanto, curiosamente, houve uma inversão da frequência dos grupos O e A dentre as gestantes com PE grave e normotensas (Grupo I, O=31,7% e A=45%; Grupo II, O=36% e A=46%) quando comparados ao grupo III, como mostra a **Tabela 5**.

A literatura revela uma associação entre grupo sanguíneo A e ocorrência de doenças, como carcinoma de estômago (AIRD *et al.*, 1953) e trombose venosa na gravidez e durante o uso de anticoncepcional oral (JICK *et al.*, 1969).

Em 1954, Pike e Dickins, em um grande estudo, avaliaram o grupo sanguíneo de 3.651 mulheres e observaram uma frequência significativamente elevada de grupo sanguíneo O dentre as gestantes que desenvolveram PE. Desta data até os dias atuais, vários outros estudos foram publicados relacionando o grupo sanguíneo ABO e a ocorrência de PE. No entanto, os resultados obtidos têm sido conflitantes.

Uma busca na literatura, restringindo ao idioma inglês e utilizando os termos “*ABO blood group and severe preeclampsia*”, revelou apenas o estudo de Spinillo *et al.* (1995) que avaliou a associação entre grupo sanguíneo ABO e ocorrência de PE grave. Para os demais estudos encontrados não foi feita a distinção da forma clínica da PE (DICKINS *et al.*, 1956; HARLAP e DAVIES, 1974; MAY, 1973; PIKE *et al.*, 1954; PEARSON *et al.*, 1956; SOUTH e NALBRETT, 1974). O estudo de Sezik *et al.* (2002) investigou esta associação apenas com a síndrome HELLP.

Spinillo *et al.* (1995) avaliando 204 gestantes com PE grave e 744 gestantes normotensas, relataram um risco de ocorrência de PE grave, três vezes maior para mulheres do grupo sanguíneo AB em relação ao grupo O.

O presente estudo não encontrou diferença significativa na frequência dos grupos sanguíneos comparando as gestantes com PE grave e as normotensas ( $p=0,69$ ,  $p=1,00$ ,  $p=0,78$  e  $p=0,73$  para os grupos O, A, B e AB, respectivamente).

A literatura revela níveis elevados de F VIII e FvW nos indivíduos dos grupos “não O”, ou seja, dos grupos A, B e AB (KAMPHUISEN *et al.*, 2001; MORELLI *et al.*, 2005; SOUSA *et al.*, 2007). Dessa forma, as participantes do estudo foram segregadas em duas categorias; O e “não O”, para comparação da atividade F VIII e dos níveis de FvW e ADAMTS-13 (**Tabela 6**). Em concordância com os dados da literatura, a comparação da atividade do F VIII e dos níveis plasmáticos de FvW revelou uma diminuição significativa de ambos nas mulheres do grupo sanguíneo O em relação àquelas do grupo “não O” ( $p=0,01$  e  $p=0,00$ , respectivamente).

Para os níveis plasmáticos de ADAMTS-13 não foram observadas diferenças significativas comparando-se as mulheres destas duas categorias ( $p=0,13$ ). Não foram encontrados na literatura estudos avaliando a relação do grupo sanguíneo ABO e dos níveis de ADAMTS-13.

A análise de F VIII, FvW e ADAMTS-13 para gestantes com PE grave ( $IG \geq 29$  semanas) segregadas em O e “não O”, não revelou diferença significativa para nenhum dos três parâmetros hemostáticos (**Tabela 7**). Resultado idêntico foi obtido para o grupo de gestantes normotensas ( $IG \geq 29$  semanas). Estes dados permitem inferir que a hipercoagulabilidade fisiológica da gravidez mascara o efeito do grupo sanguíneo, de modo que valores diminuídos de F VIII e FvW nos portadores do grupo sanguíneo O, conforme esperado, não foram observados.

Confirmando os achados da literatura, para mulheres não gestantes foi obtido um aumento da atividade de F VIII e dos níveis plasmáticos de FvW naquelas do grupo “não O” em relação às do grupo O (KAMPHUISEN *et al.*, 2001; MORELLI *et al.*, 2005; SOUSA *et al.*, 2007).

Para os níveis plasmáticos de ADAMTS-13 não foram observadas diferenças, em nenhum dos três grupos, comparando as mulheres dos grupos O e “não O”. No entanto, não há subsídio na literatura que discutam a relação entre os níveis dessa enzima e grupos sanguíneos.

A comparação da atividade de F VIII e dos níveis plasmáticos de FvW e ADAMTS-13 para gestantes com PE grave ( $IG < 29$  semanas) segregadas em O e “não O”, não revelou diferença significativa para nenhum dos três parâmetros hemostáticos (**Tabela 8**). Resultado idêntico foi obtido para o grupo de gestantes

normotensas (IG<29 semanas). No entanto, o número muito reduzido de gestantes com PE grave nos dois grupos (duas do grupo O e três do grupo “não O”) inviabiliza a interpretação dos dados.

A análise de regressão logística multivariada revelou uma associação independente entre o F VIII, FvW e ADAMTS-13 e a ocorrência de PE grave. Quando a atividade de F VIII foi superior a 150% (limite superior da faixa de referência) a chance de desenvolvimento de PE grave foi 4,02 vezes. Da mesma forma, níveis de FvW superiores a 1859 mU/mL (valor de 75% do intervalo interquartil obtido para as mulheres não gestantes) aumentaram em 3,88 vezes essa chance e níveis de ADAMTS-13 inferiores a 630 ng/mL (limite inferior da faixa de referência) elevaram em 8,77 vezes. A associação independente do F VIII, FvW e ADAMTS-13 e PE grave corroboram com os achados anteriormente descritos, confirmando a exacerbação do estado de hipercoagulabilidade na PE grave.

## **6.6 Perspectivas de estudos futuros**

Levantamento na literatura utilizando as palavras “Preeclampsia e ABO” em bancos de dados (PubMed, Cochrane, CINAHL e Lilacs) de todos os artigos publicados que investigaram a distribuição do grupo sanguíneo ABO em mulheres com PE, avaliando os critérios de inclusão e de exclusão desses e os resultados obtidos, com vistas a realizar uma metanálise sobre este tema.

Avaliação da ADAMTS-13 em outras condições que cursam com disfunção renal.

Avaliação da ADAMTS-13 ao longo da gestação com PE.

## **7 CONCLUSÕES**

A atividade de F VIII e os níveis plasmáticos de FvW estão aumentados na PE grave.

Os níveis de ADAMTS-13 estão reduzidos na PE grave.

Não há associação entre grupo sanguíneo ABO e PE grave.

A atividade de F VIII e os níveis de FvW estão elevados nas mulheres do grupo sanguíneo “não O” (A, B e AB) em relação às daquelas do grupo O.

A atividade de F VIII, os níveis de FvW e de ADAMTS-13 foram associados, de forma independente, com a PE grave.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGORASTOS, T. et al. Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations in pregnancies with adverse outcome. **The Journal of maternal-fetal and neonatal medicine** , v. 12, n. 4, p. 267-273, 2002.

AIRD, I. et al. A relationship between cancer of stomach and the ABO blood groups. **British Medical Journal**, v. 1, n. 4814, p. 799-801, Abr 1953.

ANDREWS, R. K.; BERNDT, M. C. Platelet physiology and thrombosis. **Thrombosis Research**, v. 114, n. 5-6, p. 447-453, 2004.

ANSTADT, M. P. et al. Relapse of thrombotic thrombocytopenic purpura associated with decreased VWF cleaving activity. **The American Journal of Medical Sciences**, v. 325, n. 5, p. 281-284, 2002.

BARROS, A. C. S. **Doença hipertensiva específica da gestação: correlação entre diagnóstico clínico e histopatológico renal e estudo da reversibilidade da lesão glomerular**. Tese (Doutorado Faculdade de Medicina), USP. São Paulo. 1987.

BAXTER, J. K.; WEINSTEIN, L. HELLP syndrome: the state of the art. **Obstetrical and Gynecological Survey** , v. 59, p. 838-845, 2004.

BDOLAH, Y. et al. Twin pregnancy and the risk of preeclampsia: bigger placenta or relative ischemia? **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 198, n. 4, p. 428.e1-6, 2008. Epub 2008 Jan 14.

BEIGUELMAN, B. **Os Sistemas Sanguíneos Eritrocitários**. 3. ed. Ribeirão Preto, SP: FUNPEC Editora, 2003.

BICK, R. L. Syndromes of disseminated intravascular coagulation in obstetrics, pregnancy, and gynecology. Objective criteria for diagnosis and management. **Hematology Oncology Clinics of North America**, v. 14, p. 999-1044, 2000.

BIEZENSKI, J. J.; MOORE, H. C. Fibrinolysis in normal pregnancy. **Journal of Clinical Pathology**, v. 11, n. 4, p. 306-310, 1958.

BOFFA, M. C. et al. Predictive value of plasma thrombomodulin in preeclampsia and gestacional hypertension. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 79, p. 1092-1095, 1998.

BONNAR, J.; MCNICOL, G. P.; DOUGLAS, A. S. Coagulation and fibrinolytic mechanisms during and after normal childbirth. **British Medical Journal**, v. 2, n. 5703, p. 200-203, 1970.

BOWEN, D. J. An influence of ABO blood group on the rate of proteolysis of von Willebrand factor by ADMATS13. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 1, n. 1, p. 33-40, 2003.

BOWMAN, C. M.; BUTLER, E. N.; REPINE, J. E. Hyperoxia damages cultured endothelial cells causing increased neutrophil adherence. **The American review of respiratory disease**, v. 128, n. 3, p. 469-472, Sep 1983.

BRENNER, B. Haemostatic changes in pregnancy. **Thrombosis Research**, v. 114, n. 5-6, p. 409-414, 2004.

BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. **Tietz fundamentos de química clínica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

CADROY, Y. et al. Evaluation of six markers of haemostatic system in normal pregnancy and pregnancy complicated by hypertension or pre-eclampsia. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, London, v. 100, p. 416-420, 1993.

CARON, C. et al. Are haemostatic and fibrinolytic parameters predictors of preeclampsia in pregnancy -associated hypertension? **Thrombosis and Haemostasis**, Stuttgart, v. 66, n. 4, p. 410-414, 1991.

CARTY, D. M.; DELLES, C.; DOMINICZACK, A. F. Novel biomarkers for predicting preeclampsia. **Trends in cardiovascular medicine**, v. 18, n. 5, p. 186-194, 2008.

CLARK, P.; BRENNAND, J.; CONKIE, J. A. Activated protein C sensitivity, protein C, protein S and coagulation in normal pregnancy. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 79, n. 6, p. 1166-1170, 1998.

CLARK, P.; WALKER, I. The phenomenon known as acquired activated protein C resistance. **British Journal of Haematology**, v. 115, n. 4, p. 767-773, 2001.

CLARK, P.; WU, O. ABO(H) blood groups and pre-eclampsia. A systematic review and meta-analysis. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 100, n. 3, p. 469-474, 2008.

COLVIN, B. T. Physiology of haemostasis. **Vox Sanguinis**, v. 87, n. 1, p. 43-46, 2004.

CUNNINGHAM, F. G. **Williams obstetrícia**. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

D'ANIELLO, G. et al. The search for thrombophilic gene mutations in women with gestational hypertension does not help in predicting poor pregnancy outcome. **Journal of hypertension**, v. 21, n. 10, p. 1915-1920, 2003.

DE BOER, K. et al. Enhanced thrombin generation in normal and hypertensive pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 160, n. 1, p. 95-100, 1989.

DE GROOT, C. J. M. et al. Plasma from preeclamptic women increases human endothelial cell prostacyclin production without changes in cellular enzyme activity or mass. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 172, n. 3, p. 976-985, Mar 1995.

DE GROOT, C. J. M. et al. Pre-eclampsia and genetic risk factors for thrombosis: a case-control study. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 181, n. 4, p. 975-980, 1999.

DEKKER, G.A. et al. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 173, n. 4, p. 1042-1048, 1995.

DE MAAT, M. P. M. et al. Pre-eclampsia and its interaction with common variants in thrombophilia genes. **Journal of thrombosis and haemostasis**, v. 2, p. 1588-1593, 2004.

DELASCIO, D. **Hipertensão na gravidez**. São Paulo: Savier, 1983.



DICKINS, A.M. et al. Further observations on ABO blood-group frequencies and toxæmia of pregnancy. **British medical journal**, v. 7, p. 776-777, 1956.

DUBE, B.; BHATTACHARYA, S.; DUBE, R. K. Blood coagulation profile in Indian patients with preeclampsia and eclampsia. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, Oxford, v. 82, p. 35-39, 1975.

DUCKITT, K.; HARRINGTON, D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review. **British Medical Journal**, v. 330, p. 549-550, 2005.

DUDDING, T. E.; ATTIA, J. The association between adverse pregnancy outcomes and maternal Factor V Leiden genotype: a meta-analysis. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 91, n. 4, p. 700-711, 2004.

DUSSE, L. M. et al. Increased circulating thrombomodulin levels in pre-eclampsia. **Clinica chimica acta**, v. 387, n. 1-2, p. 168-171, Jan 2008. Epub 2007 Sep 5.

DUSSE, L. M. S. **Avaliação da hemostasia e do óxido nítrico (NO) na doença hipertensiva específica da gravidez (DHEG)**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) , Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 167. 1999.

DUSSE, L. M. S. et al. Inherited thrombophilias and pre-eclampsia in Brazilian women. **European journal of obstetrics, gynecology and reproductive biology**, v. 134, n. 1, p. 20-23, 2007a.

DUSSE, L. M. S.; VIEIRA, L. M.; CARVALHO, M. G. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, p. 343-350, 2003.

ESPAÑA, F. et al. Complex of active protein C with  $\alpha$ 1-antitrypsin in normal pregnancy and in severe preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 164, p. 1310, 1991.

ESTELLES, A. et al. Abnormal expression of type 1 plasminogen activator inhibitor and tissue factor in severe preeclampsia. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 79, n. 3, p. 500-508, 1998.

FABBRO, D. et al. Association between plasminogen activator inhibitor 1 gene polymorphisms and pre-eclampsia. **Gynecologic and obstetric investigation**, v. 56, n. 1, p. 17-22, 2003.

FERNANDEZ, J. A.; ESTELLES, A.; GILABERT, J. Functional and immunologic protein S in normal pregnant women and in fullterm newborns. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 61, n. 3, p. 474-478, 1989.

FRANCO, R. F. Fisiologia da coagulação do sangue e da fibrinólise. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia Fundamentos e Práticas**. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2001. p. 739-748.

FRIEDMAN, S. A. et al. Biochemical corroboration of endothelial involvement in severe preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 172, p. 202-203, Jan 1995.

FURLAN, M. et al. von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. **The New England Journal of Medicine**, v. 339, n. 22, p. 1578-1584, 1998.

GALTON, M.; MERRITT, K.; BELLER, F. K. Coagulation studies of the peripheral circulation of patients with toxemia of pregnancy: a study for the evaluation of disseminated intravascular coagulation in toxemia. **The journal of reproductive medicine**, v. 6, p. 89-100, 1971.

GEARY, M. The HELLP syndrome. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 104, p. 887-891, 1997.

GERHARDT, A. et al. The G20210A prothrombin-gene mutation and the plasminogen activator inhibitor (PAI-1) 5G/5G genotype are associated with early onset of severe preeclampsia. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 3, p. 686-691, 2004.

GHIRARDINI, G. et al. D-dimer after delivery in uncomplicated pregnancies. **Clinical and Experimental Obstetrics and Gynecology**, v. 26, n. 3-4, p. 211-212, 1999.

GILBERT, J. S. et al. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: linking placental ischemia with endothelial dysfunction. **American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology**, v. 294, n. 2, p. 541-550.

HALLIGAN, A. et al. A longitudinal study of haemostatic, fibrinolytic and endothelial. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology** , v. 101, p. 481-484, 1994.

HARAM, K.; SVENDSEN, E.; ABILDGAARD, U. The HELLP syndrome: clinical issues and management. **A Review BMC Pregnancy Childbirth**, v. 26, p. 9-8, 2009.

HARLAP, S.; DAVIES, A. M. Maternal Blood Group A and Pre-eclampsia. **British Medical Journal**, p. 171-172, 1974.

HIGGINS, J. R. et al. Hemostasis in the uteroplacental and peripheral circulations in. **American Journal of Obstetrics and Gynecology** , v. 179, p. 520-526, 1998.

HIGGINS, J. R. et al. Hemostasis in the uteroplacental and peripheral circulations in normotensive and pre-eclamptic pregnancies. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 179, n. 2, p. 520-526, Aug 1998.

HILTUNEN, L. M. et al. Blood group AB and factor V Leiden as risk factors for pre-eclampsia: a population-based nested case-control study. **Thrombosis Research**, v. 124, n. 2, p. 167-173, 2009.

HOFFMAN, M. A cell-based model of coagulation and the role of factor VIIa. **Blood Reviews**, v. 17, n. Suppl 1, p. 1-5, 2003.

HOFFMAN, M. Remodeling the blood coagulation cascade. **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, v. 16, n. 1/2, p. 17-20, 2003.

HOFFMAN, M.; MONROE, D. M. Coagulation 2006: a modern view of hemostasis. **Hematology/Oncology Clinics of North American**, v. 21, n. 1, p. 1-11, 2006.

HSU, C. H. et al. Elevated circulating thombomodulin in severe preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St Louis, v. 169, p. 148-149, 1993.

HSU, C. H. et al. Thombomodulin levels in preeclampsia, gestacional hypertension, and chronic hypertension. **Obstetrics and gynecology**, New York, v. 86, p. 897-899, 1995.

HUBER, K.; CHRIST, G.; WOJTA, J. Plasminogen activator inhibitor type-1 in cardiovascular disease. **Thrombosis Research**, v. 103, n. Suppl 1, p. 7-19, 2001.

HULSTEIN, J. J. et al. Acute activation of the endothelium results in increased levels of active von Willebrand factor in hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets (HELLP) syndrome. **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, v. 4, n. 12, p. 2569-2575, Dec 2006. Epub 2006 Sep 12.

JENKINS, P. V.; O'DONNELL, J. S. ABO blood group determines plasma von Willebrand factor levels: a biologic function after all?. **Transfusion**, v. 46, n. 10, p. 1836-1844, 2006.

JICK, H. et al. Venous thromboembolic disease and ABO blood type. A cooperative study. **The Lancet**, v. 1, n. 7594, p. 539-542, Mar 1969.

KAMPHUISEN, P. W.; EIKENBOOM, J. C. J.; BERTINA, R. M. Elevated factor VIII levels and the risk of thrombosis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 21, n. 5, p. 731-738, 2001.

KLUFT, C. et al. Acquired activated protein C resistance. **The Lancet**, v. 353, n. 9167, p. 1882, 1999.

KNAPEN, M. F. et al. Plasma glutathione S-transferase alpha 1-1: a more sensitive marker for hepatocellular damage than serum alanine aminotransferase in hypertensive disorders of pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 178, p. 161-165, 1998.

KOH, C. L. et al. Plasminogen activators and inhibitors in normal late pregnancy. **International Journal of Gynaecology and Obstetrics**, v. 38, p. 9-18, 1992.

KOSTER, T. et al. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. **The Lancet**, v. 345, n. 8943, p. 152-155, 1995.

KUPFERMINTZ, M. J. et al. Severe pre-eclampsia and high frequency on genetic thrombophilic. **Obstetrics and gynecology**, v. 96, p. 45-49, 2000.

LATTUADA, A. et al. Mild to moderate reduction of a von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS-13) in pregnant women with HELLP microangiopathic syndrome. **Haematologica**, v. 88, n. 9, p. 1029-1034, Sep 2003.

LIN, J.; AUGUST, P. Genetic thrombophilias and pre-eclampsia: a metaanalysis. **Obstetrics and gynecology**, v. 105, n. 1, p. 182-192, 2005.

LINDHEIMER, M. D. et al. Hypertension in pregnancy: a biopsy study with long-term follow-up. **Contributions to nephrology**, v. 25, p. 71-77, 1981.

LOWE, G. D. O.; RUMLEY, A.; WOODWARD, M. Activated protein C resistance and the FV:R506Q mutation in a random population sample-association with cardiovascular risk factors and coagulation variables. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 81, p. 918-924, 1999.

MACKMAN, N.; TILLEY, R. E.; KEY, N. S. Role of the extrinsic pathway of blood coagulation in hemostasis and thrombosis. **Arteriosclerosis, thrombosis and vascular biology**, v. 27, n. 8, p. 1687-1693, 2007.

MAGANN, E. F.; MARTIN, J. N. Twelve steps to optimal management of HELLP syndrome. **Clinical obstetrics and gynecology**, v. 24, p. 532-550, 1999.

MANEA, M. et al. Biologically active ADAMTS13 is expressed in renal tubular epithelial cells. **Pediatric nephrology**, Jul 2009. Epub ahead of print.

MATSUI, T.; TITANI, K.; MIZUOCHI, T. Structures of the asparaginyl-linked oligosaccharide chains of human von Willebrand factor. Occurrence of blood group A, B, and H(O) structures. **Journal of Biological Chemistry**, v. 267, n. 13, p. 8723-8731, 1992.

MAY, D. Maternal Blood Group A and Pre-eclampsia. **British Medical Journal**, p. 738, 1973.

MAY, D. Maternal blood group A and pre-eclampsia. **British Medical Journal**, v. 4, n. 5894, p. 738, 1973.

MCKAY, D. G.; MERRILL, S. J.; WEINER, A. E. The pathologic anatomy of preeclampsia, bilateral renal cortical necrosis, pituitary necrosis, and other acute fatal

outcomes of pregnancy and its possible relationship to the generalized Schwartzmann reaction. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 66, p. 507-539, 1953.

MINAKAMI, H. et al. Increased levels os plasma thombomodulin in preeclampsia. **Gynecologic and obstetric investigation**, Basel, v. 36, p. 208-210, 1993.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual Técnico de Pré-Natal e Puerpério – Atenção Qualificada e Humanizada, Brasília, p. 162, 2006. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/Manual%20Puerperio%202006.pdf>>. Acesso em: 14 mar 2009.

MOAKE, J. L. et al. Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. **The New England Journal of Medicine**, v. 307, n. 23, p. 1432-1435, 1982.

MOLVAREC, A. et al. Increased plasma von Willebrand factor antigen levels but normal von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13) activity in preeclampsia. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 101, n. 2, p. 305-311, Feb 2009.

MORELLI, V. M. et al. ABO blood group genotypes and risk of venous thrombosis: effect of factor V Leiden. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 3, n. 1, p. 183-185, 2005.

MORRISSEY, J. H.; MUTCH, N. J. Tissue factor structure and function. **Hemostasis and Thrombosis**, n. 5, p. 91-106, 2006.

NADAR, S.K. et al. Thrombomodulin, von Willebrand factor and E-selectin as plasma markers of endothelial damage/dysfunction and activation in pregnancy induced hypertension. **Thrombosis research**, v.2, p. 123-128, 2004.

O'DONNELL, J. et al. Amount of H antigen expressed on circulating von Willebrand factor is modified by ABO blood group genotype and is a major determinant of plasma von Willebrand factor antigen levels. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 22, n. 2, p. 335-341, 2002.

O'DONNELL, J. et al. Genotype at the secretor blood group locus is a determinant of plasma von Willebrand factor level. **British journal of haematology**, v. 116, n. 2, p. 350-356, Feb 2002.

OHIRA, T. et al. ABO blood group, other risk factors and incidence of venous thromboembolism: the Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology (LITE). **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 5, n. 7, p. 1455-1461, 2007.

O'RIORDAN, M. N.; J.R., H. Haemostasis in normal and abnormal pregnancy. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 17, n. 3, p. 385-396, 2003.

ORSTAVIK, K. H. et al. Factor VIII and factor IX in a twin population: evidence for a major effect of ABO locus on factor VIII level. **American Journal of Human Genetics**, v. 37, n. 1, p. 89-101, 1985.

OUVINA, S. M. et al. Endothelial dysfunction, nitric oxide and platelet activation in hypertensive and diabetic type II patients. **Thrombosis Research**, v. 102, n. 2, p. 107-114, 2001.

OYELESE, Y.; ANANTH, C. V. Placental abruption. **Obstetrics and gynecology**, v. 108, p. 1005-1016, 2006.

PAIVA, S. G. et al. Polymorphisms in exons 6 and 7 of the ABO locus and their association with venous thrombosis in young Brazilian patients. **Blood Coagulation & Fibrinolysis**, v. 20, n. 2, p. 122-128, 2009.

PEARSON, M. G.; PINKER, G. D. ABO BLOOD GROUPS AND TOXAEMIA OF PREGNANCY. **British Medical Journal**, p. 777-778, 1956.

PERUTELLI, P.; MOLINARI, A. C. von Willebrand factor, von Willebrand factor-cleaving protease, and shear stress. **Cardiovasc Hematol Agents Med Chem**, v. 5, n. 4, p. 305-310, Oct 2007.

PIKE, L. A.; DICKINS, A. M. ABO BLOOD GROUPS AND TOXAEMIA OF PREGNANCY. **British Medical Journal**, p. 321-323, 1954.

PRASMUSINTO, D. et al. Ethnic differences in the association of Factor V Leiden mutation and the C677T methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism with pre-eclampsia. **European journal of obstetrics, gynecology and reproductive biology**, v. 112, n. 2, p. 162-169, 2004.

RANA, A. et al. Abruptio placentae and chorioamnionitis –microbiological and histologic correlation. **Acta Obstetricia et gynecologica Scandinavica**, v. 78, p. 363-366, 1999.

REDMAN, C. W.; SACS, G. P.; SARGENT, I. L. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 180, n. 2 Pt 1, p. 499-506, Feb 1999.

REDMAN, C. W.; SARGENT, I. L. Pre-eclampsia, the placenta and the maternal systemic inflammatory response - a review. **Placenta**, v. 24 Suppl A, p. 21-27, Apr 2003.

REININGER, A. J. Function of von Willebrand factor in haemostasis and thrombosis. **Haemophilia**, v. 14, n. 5, p. 11-26, 2008.

REISS, R. E. et al. Retrospective comparison of blood pressure course during preeclampsia and matched control pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 156, p. 84-88, 1987.

REZENDE, J. D. **Obstetrícia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

RIEGER, M. et al. ADAMTS13 autoantibodies in patients with thrombotic microangiopathies and other immunomediated diseases. **Blood**, v. 106, n. 4, p. 1262-1267, 2005.

RIO, S. M. P. **Síndromes Hipertensivas na Gravidez: Associação entre a histopatologia renal e o diagnóstico clínico**. Dissertação (Mestrado Faculdade de Medicina) Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 90. 1996.

RIOS, R. A. R. **Estudo de Biomarcadores de Trombose do Acesso Vascular em Pacientes sob Hemodiálise**. Tese (Doutorado Faculdade de Farmácia) Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 153. 2010.

ROBERTS, H. R.; HOFFMAN, M.; MONROE, D. M. A cell-based model of thrombin generation. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 32, n. suppl 1, p. 32-38, 2006.



ROBERTS, J. M. et al. Summary of the NHLBI Working Group on Research on Hypertension During Pregnancy. **Hypertension in Pregnancy**, v. 22, n. 2, p. 109-127, 2003.

ROBERTS, J. M.; GAMMILL, H. S. Preeclampsia: Recent insights. **Hypertension**, v. 46, n. 6, p. 1243-1249, 2005.

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

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

RUGGERI, Z. M. Von Willebrand factor, platelets and endothelial cell interactions. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 1, n. 7, p. 1335-1342, 2003.

SADLER, J. E. et al. Recent advances in thrombotic thrombocytopenic purpura. **Hematology Am Soc Hematol Educ Program**, p. 407-423, 2004.

SARODE, R. et al. Role of A and B blood group antigens in the expression of adhesive activity of von Willebrand factor. **British journal of haematology**, v. 109, p. 857-864, 2000.

SEZIK, M.; TOYRAN, H.; YAPAR, E. G. Distribution of ABO and Rh blood groups in patients with HELLP syndrome. **Archives of gynecology and obstetrics**, v. 267, n. 1, p. 33-36, 2002.

SHIMA, M. et al. ABO blood group genotype and plasma von Willebrand factor in normal individuals. **Vox Sanguinis**, v. 68, n. 4, p. 236-240, 1995.

SIBAI, B. M. The HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets): much ado about nothing?. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 162, p. 311-316, 1990.

SIBAI, B. M. Diagnosis, controversies, and management of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. **Obstetrics and gynecology**, v. 103, p. 981-991, 2004.

SIBAI, B. M. et al. Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP syndrome). **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 169, p. 1000-1006, 1993.

SIBAI, B. M. G. T. et al. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units: Risk factors for preeclampsia in health nulliparous women: A prospective multicenter study. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 172, p. 642, 1994.

SMITH, S. A. The cell-based model of coagulation. **Journal of veterinary emergency and critical care**, v. 19, n. 1, p. 3-10, 2009.

SOUSA, C. M. et al. The relationship between ABO groups and subgroups, factor VIII and von Willebrand factor. **Haematologica**, v. 92, n. 2, p. 236-239, 2007.

SOUTH, J.; NALDRETT, J. Maternal Blood Group A and Pre-eclampsia. **British Medical Journal**, p. 641, Mar 1974.

SOUTO, J. C. et al. Functional effects of the ABO locus polymorphism on plasma levels of von Willebrand factor, factor VIII, and activated partial thromboplastin time. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 20, n. 8, p. 2024-2028, 2000.

SPINILLO, A. et al. Case-control study of maternal blood group and severe pre-eclampsia. **Journal of human Hypertension**, v. 9, p. 623-625, 1995.

STIRLING, Y. et al. Haemostasis in normal pregnancy. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 52, n. 2, p. 176-182, 1984.

SUMPIO, B. E.; RILEY, J. T.; DARDIK, A. Cells in focus: endothelial cell. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 34, n. 12, p. 1508-1512, 2002.

SUNIL, K. N. et al. von Willebrand factor and E-selectin as plasma markers of endothelial damage/dysfunction and activation in pregnancy induced hypertension. **Thrombosis Research**, v. 113, p. 123-128, 2004.

THORNTON, C. A.; BONNAR, J. Factor VIII-related antigen and factor VIII coagulant activity in normal and pre-eclamptic pregnancy. **Journal of Obstetrics and Gynaecology of the British Commonwealth**, v. 81, p. 497-511, 1977.

THORNTON, C. A.; BONNAR, J. Factor VIII-related antigen and factor VIII coagulant activity in normal and pre-eclamptic pregnancy. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, v. 84, n. 12, p. 919-923, 1977.

TIRADO, I. et al. The ABO blood group genotype and factor VIII levels as independent risk factors for venous thromboembolism. **Blood Coagulation, Fibrinolysis and Cellular Haemostasis**, v. 93, n. 3, p. 468-474, 2005.

VAN PAMPUS, M. G. et al. High prevalence of hemostatic abnormalities in women with a history of severe preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 180, n. 5, p. 1146-1150, May 1999.

VLOT, A. J. et al. The half-life of infused factor VIII is shorter in hemophiliac patients with blood group O than in those with blood group A. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 83, n. 1, p. 65-69, 2000.

W.G., R. C.; SARGENT.I.L. Microparticles and immunomodulation in pregnancy and pre-eclampsia. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 76, n. 1-2, p. 61-67, 2007.

WALTER.J.J. Pre-eclampsia. **The Lancet**, v. 356, p. 1260-1265, 2000.

WEINER, C. P. The obstetric patient and disseminated intravascular coagulation. **Clinics in perinatology**, v. 13, p. 705-717, 1986.

WITSENBURG, C. P. et al. Factor VIII levels and the risk of pre-eclampsia, HELLP syndrome, pregnancy related hypertension and severe intrauterine growth retardation. **Thrombosis Research**, v. 115, n. 5, p. 387-392, 2005.

XIAO, Q.; DANTON, M. J.; WITTE, D. P. Plasminogen deficiency accelerates vessel wall disease in mice predisposed to atherosclerosis. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 94, p. 10335-10340, 1997.

YOUNG, B. C.; LEVINE, R. J.; KARUMANCHI, A. Pathogenesis of Preeclampsia. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 5, p. 173-192, 2010.

**ANEXO A - Termo de aprovação pelo COEP/UFMG**

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

**Parecer nº. ETIC 0020.0.203.000-10**

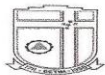
**Interessado(a): Profa. Luci Maria Sant'Ana Dusse  
Depto. de Análises Clínicas e Toxicológicas  
Faculdade de Farmácia - UFMG**

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 03 de março de 2010, o projeto de pesquisa intitulado "Preeclâmpsia: Grupo sanguíneo ABO e sua relação com os níveis plasmáticos de FVIII, FvW e ADAMTS 13" 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.

**Prof. Maria Teresa Marques Amaral  
Coordenadora do COEP-UFMG**

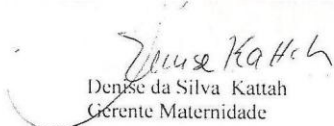
**ANEXO B - Declaração de aprovação pelo HPRB**

Prefeitura Municipal de Betim  
Secretaria Municipal de Saúde  
Hospital Público Regional de Betim - HPRB  
Maternidade do HPRB


**Declaração**

Declaramos, para os devidos fins, que estamos de acordo com o desenvolvimento do projeto intitulado "Pré-eclâmpsia: avaliação dos níveis plasmáticos de F VIII, FvW e ADAMTS-13 e do grupo sanguíneo ABO" da Faculdade de Farmácia da UFMG, na Maternidade do Hospital Público Regional de Betim.

Betim, 05 de fevereiro de 2010

  
Denise da Silva Kattah  
Gerente Maternidade

*Denise da Silva Kattah*  
Enf. Obstetra - COREN 69065  
Gerente Divisão Serviço de Obstetrícia

  
Geraldo Marcio Viana Zanon  
Diretor HPRB

*Geraldo Marcio Viana Zanon*  
Diretor Geral - Hospital Público  
Regional de Betim

**ANEXO C - Parecer de aprovação pelo NEP/MOV****PARECER Nº77/08**

**Registro CEP/FHEMIG:** 77/08 (este nº deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)

**CAAE:** 0040.0.287.203-08

**Pesquisadora Responsável:** Luci Maria Sant Ana Dulce

**Hospital Maternidade Odete Valadares.**

**DECISÃO:**

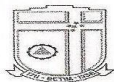
O Comitê de Ética em Pesquisa, (CEP/FHEMIG), aprovou no dia 07 de Agosto de 2008 o projeto de pesquisa intitulado, «Pré-Eclampsia e Polimorfismos nos Genes do Fator VII e do Receptor de Estrogênio».

Relatórios parciais e finais devem ser encaminhados ao CEP/FHEMIG com um intervalo mínimo de 6 meses (entre os relatórios), a partir da data de início do estudo.

- Formulário CAAE – Certificado de Apresentação para Apreciação Ética – deverá ser assinado, pelo pesquisador responsável, nos espaços apropriados, e em seguida o NEP deverá encaminhar a este CEP/FHEMIG 02 (duas) vias devidamente assinadas, enquanto que a outra deverá ser entregue ao pesquisador responsável.

**Inês Ferreira e Melo Teixeira Dias**  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

0023577 | 6.


**ANEXO D - Declaração de aprovação pela gerência da UBSF Guanabara**

**Prefeitura Municipal de Betim**  
**Secretaria Municipal de Saúde**  
**Unidade Básica de Saúde da Família Guanabara**

**Declaração**

Declaro, para os devidos fins, que estou de acordo com o desenvolvimento do projeto intitulado "Pré-eclâmpsia: avaliação dos níveis plasmáticos de F VIII, FvW e ADAMTS-13 e do grupo sanguíneo ABO" da Faculdade de Farmácia da UFMG, no posto de saúde UBSF Guanabara Betim.

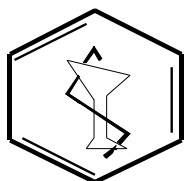
Betim, 10 de fevereiro de 2010

  
**Wilson Ribeiro de Meireles**  
**Enfermeiro**  
**CONEX-MG 195143**

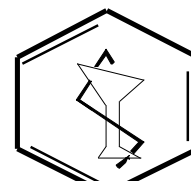
Wilson Ribeiro de Meireles  
Gerente UBSF Guanabara



## ANEXO E - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
DEPTO. ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROJETO DE PESQUISA: “PRÉ-ECLÂMPSIA: AVALIAÇÃO DE FATOR VIII, FATOR DE von WILLEBRAND E ADAMTS-13 E DO GRUPO SANGUÍNEO ABO”

Prezada Sra,

Você está sendo convidada para participar de uma pesquisa que tem por objetivo investigar as alterações da coagulação que ocorrem na pré-eclâmpsia e, dessa forma, contribuir para o maior entendimento desta doença.

Para realizar este estudo, gostaríamos de colher 5 mL do seu sangue para realização dos exames e armazenamento em um banco de amostras biológicas para estudos genéticos futuros. Esclarecemos que este banco de amostras está aprovado e registrado no Comitê de Ética/UFMG sob o nº 216/06.

Na coleta de sangue pode ocorrer uma leve dor localizada e formação de um pequeno hematoma. Para minimizar o risco de formação de hematomas, a coleta de sangue será realizada por um profissional experiente. Serão utilizados agulhas e tubos descartáveis.

Seu nome e os resultados dos exames serão mantidos em segredo.

Esclarecemos que caso não queira participar deste estudo, não haverá nenhum comprometimento ao seu atendimento e tratamento.

Para qualquer dúvida sobre esta pesquisa você deverá entrar em contato com as pessoas responsáveis pela mesma, cujos nomes estão abaixo relacionados.

Se você estiver de acordo, por favor, assine esta folha.

Professores responsáveis:

Luci Maria Sant’Ana Dusse – telefone: 3409-6880

Karina Braga Gomes Borges – telefone: 3409-4983

Ana Paula Salles Moura Fernandes – telefone: 3409-6884

Maria das Graças Carvalho – telefone: 3409-6881

Lara Carvalho Godoi – telefone: 3409-6900

Patrícia Nessralla Alpoim – telefone: 3409-6900

**Comitê de Ética em Pesquisa – COEP:** Av. Antônio Carlos, nº. 6627 – Pampulha – Campus UFMG, Unidade Administrativa II, 2º a, sala 2005. CEP: 31270-901. Telefone: 3409-4592

NOME:

\_\_\_\_\_

Carteira de identidade: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ DATA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Agradecemos sua valiosa participação!



### ANEXO F - Fichas clínicas dos grupos I, II e III

FICHA CLÍNICA			
Projeto: "PRÉ-ECLÂMPسيا: AVALIAÇÃO DE FATOR VIII, FATOR DE von WILLEBRAND E ADAMTS-13 E DO GRUPO SANGUÍNEO ABO"			
Data:			
Grupo 1: Pré-eclâmpسيا		Paciente nº:	
Diagnóstico de pré-eclâmpسيا dado em: ____/____/____			
Médico responsável:			
<b>1. Identificação</b>			
Nome:			
Prontuário número:			
Nacionalidade:		Naturalidade:	
Data de nascimento:		Idade:	
Estado civil:		Escolaridade:	
Endereço:			
Rua/Avenida:			
Número:		Complemento:	
Bairro:		Cidade:	
CEP:		Estado:	
Telefone: (   )			
<b>2. Anamnese</b>			
Presença de doenças intercorrentes? (distúrbios da coagulação, doenças cardiovasculares, doenças renais, doenças autoimunes, doenças hepáticas, diabetes, câncer, sangramento, pré-eclâmpسيا na família, complicações em gravidez anterior)			
Fumante? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Consumo de álcool? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO		Quantidade:	
Praticar exercício físico? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Frequência:		Modalidade:	
<b>3. Informações sobre a(s) gestação(ões)</b>			
Idade gestacional: ____ semanas			
Pré-natal? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Gravidez múltipla? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
GPA (Gravidez Parto Aborto): ____/____/____			
Mesmo pai?			
Partos vaginal (PN) ou cirúrgico (PC)?			
Intervalo interpartal (meses):			
Parto prematuro?			
Filhos vivos:			
Principais queixas:			
<input type="checkbox"/> Cefaléia	<input type="checkbox"/> Epigastralgia	<input type="checkbox"/> Escotoma	<input type="checkbox"/> Reflexo patelar
<input type="checkbox"/> Outros			
<b>4. Uso de medicamentos</b>			



FICHA CLÍNICA			
Projeto: "PRÉ-ECLÂPSIA: AVALIAÇÃO DE FATOR VIII, FATOR DE von WILLEBRAND E ADAMTS-13 E DO GRUPO SANGUÍNEO ABO"			
Data:			
Grupo 2: Normotensas		Paciente nº:	
<b>1. Identificação</b>			
Nome:			
Prontuário número:			
Nacionalidade:		Naturalidade:	
Data de nascimento:		Idade:	
Estado civil:		Escolaridade:	
Endereço:			
Rua/Avenida:			
Número:		Complemento:	
Bairro:		Cidade:	
CEP:		Estado:	
Telefone: ( )			
<b>2. Anamnese</b>			
Presença de doenças intercorrentes? (distúrbios da coagulação, doenças cardiovasculares, doenças renais, doenças autoimunes, doenças hepáticas, diabetes, câncer, sangramento, pré-eclâmpsia na família, complicações em gravidez anterior)			
Fumante? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Consumo de álcool? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO		Quantidade:	
Pratica exercício físico? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Frequência:		Modalidade:	
<b>3. Informações sobre a(s) gestação(ões)</b>			
Idade gestacional: _____ semanas			
Pré-natal? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Gravidez múltipla? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
GPA (Gravidez Parto Aborto): ____/____/____			
Mesmo pai?			
Partos vaginal (PN) ou cirúrgico (PC)?			
Intervalo interpartal (meses):			
Parto prematuro?			
Filhos vivos:			
<b>4. Uso de medicamentos?</b> <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
SE SIM. Quais medicamentos?			
<b>5. Informações clínicas</b>			
Altura: _____ cm			
Peso: _____ Kg			
Ganho de peso na gravidez:			
Pressão arterial: ____/____ mmHg			

FICHA CLÍNICA			
Projeto: "PRÉ-ECLÂPSIA: AVALIAÇÃO DE FATOR VIII, FATOR DE von WILLEBRAND E ADAMTS-13 E DO GRUPO SANGUÍNEO ABO"			
Data:			
Grupo: 3 - Mulheres não gestantes		Paciente nº:	
<b>1. Identificação</b>			
Nome:			
Nacionalidade:		Naturalidade:	
Data de nascimento:		Idade:	
Estado civil:		Escolaridade:	
Endereço:			
Rua/Avenida:			
Número:		Complemento:	
Bairro:		Cidade:	
CEP:		Estado:	
Telefone: ( )			
<b>2. Anamnese</b>			
Presença de doenças intercorrentes? (distúrbios da coagulação, doenças cardiovasculares, doenças renais, doenças autoimunes, doenças hepáticas, diabetes, câncer, sangramento, história familiar)			
Fumante? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Consumo de álcool? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO		Quantidade:	
Pratica exercício físico? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Frequência:		Modalidade:	
Uso de medicamentos? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
SE SIM. Quais medicamentos?			
Gestações? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Se SIM. Quantas?			
Intercorrências durante a gestação? (hipertensão, pré-eclâmpsia, aborto, parto prematuro)			
<b>3. Exame físico</b>			
Altura: _____ cm			
Peso: _____ Kg			
IMC:			
Pressão arterial: _____ / _____ mmHg			