

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA**

**E CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: NEFROLOGIA**

**NÍVEIS SÉRICOS DE ESTRADIOL, PROGESTERONA E  
ÓXIDO NÍTRICO EM GESTANTES COM  
SÍNDROME DE PRÉ-ECLÂMPSIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul para obtenção do título de MESTRE.

**FABÍOLA ZOPPAS FRIDMAN**

Orientadores: Carlos Eduardo Poli de Figueiredo

Bartira Ercília Pinheiro da Costa

**Porto Alegre, janeiro 2005**

F898h **Fridman, Fabíola Zoppas**

Níveis séricos de estradiol, progesterona e óxido nítrico em gestantes nulíparas normais e com síndrome de pré-eclâmpsia / Fabíola Zoppas Fridman; orient. Carlos Eduardo Poli de Figueiredo; Bartira Ercília Pinheiro da Costa. Porto Alegre: PUCRS, 2004.

77f.: gráf. il. táb.

Dissertação(Mestrado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de Concentração: Nefrologia.

1. HORMÔNIOS. 2. ESTERÓIDES. 3. HORMÔNIOS SEXUAIS. 4. ARGININA. 5. ESTRÓGENOS. 6. HIPERTENSÃO. 7. GRAVIDEZ. 8. FEMININO. 9. HUMANO. 10. PARIDADE. 11. ESTUDOS DE CASOS E CONTROLES. I. Poli de Figueiredo, Carlos Eduardo. II. Pinheiro da Costa, Bartira Ercília. III. Título.

C.D.D. 612.405

C.D.U. 612.621.3:546.172.6(043.3)

**Dedico este trabalho a  
meu esposo André , pela paciência e  
compreensão, meus pais Pedro e Lourdes, sempre  
presentes e minha amada filha Isabela, que  
chegou no decorrer desta jornada.**

**Amo muito vocês !**

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus orientadores, Dr. Carlos Eduardo Poli de Figueiredo e Dra. Bartira Ercília Pinheiro da Costa, pelo apoio e incentivo sempre constantes e pela ajuda e participação ativa em todos os momentos deste trabalho.

Às pacientes, sem as quais não seria possível a realização deste trabalho.

Aos colegas, amigos, residentes, plantonistas e professores do Serviço de Obstetrícia do Hospital São Lucas da PUCRS pela ajuda na coleta dos dados e início desta linha de pesquisa.

Ao Dr. Mário Bernardes Wagner, pela assessoria e análise estatística dos dados.

À bioquímica Rosa Maria Selbach Souza pela realização das dosagens hormonais, com extrema organização de todos os resultados.

À secretária Sônia Mantovani, pela ajuda nas dificuldades surgidas ao longo dos semestres.

À CAPES, pela oportunidade desta realização científica.

Ao funcionário Giquitibá Moraes de Melo, pela ajuda e resolução de problemas sempre na última hora, com extrema rapidez e eficiência, já homenageado desde minha formatura em 1995.

Ao meu amigo e colega Dr. Rafael de Andrade Duarte, pelas leituras e esclarecimentos compartilhados nestes três últimos anos.

À Dra. Suzana Arenhart Pessini pelo incentivo, apoio e amizade nestes últimos anos, os quais foram muito importantes para o meu desempenho profissional.

Enfim, a todos que participaram direta ou indiretamente deste trabalho, o meu muito obrigado e o meu carinho por todos vocês.

# SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>VIII</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>X</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>XI</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>XII</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XIV</b>
<b>I - INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1. GESTAÇÃO E ADAPTAÇÃO VASCULAR .....	1
2. PRÉ-ECLÂMPsia.....	2
2.1 Etiopatogenia da pré-eclâmpsia.....	5
2.2 Fisiopatologia da pré-eclâmpsia .....	7
3. PLACENTA E HORMÔNIOS PLACENTARES.....	9
4. ESTROGÊNios E PROGESTOGÊNios.....	12
5. HORMÔNIOS ESTERÓIDES FEMININOS E ALTERAÇÕES VASCULARES .....	17
6. VIA L-ARGININA/ON, ESTERÓIDES E REATIVIDADE VASCULAR .....	21
7. ESTE ESTUDO.....	27
<b>II - OBJETIVOS .....</b>	<b>30</b>
1. OBJETIVO GERAL.....	30
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	30
<b>III – PACIENTES E MÉTODOS .....</b>	<b>31</b>
1. DELINEAMENTO DA PESQUISA.....	31
2. POPULAÇÃO E AMOSTRA .....	31
2.1 Critérios de inclusão e exclusão de pacientes .....	32
3. DEFINIÇÕES PARA O TRABALHO .....	33
4. VARIÁVEIS ANALISADAS.....	35
4.1 Dados demográficos e clínicos .....	35
4.2 Exame físico.....	35
4.3 Exames laboratoriais.....	36
4.4 Evolução materno-fetal.....	38
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	39
6. CONSIDERAÇÕES SOBRE A FORMA DE DISSERTAÇÃO.....	40
<b>IV - RESULTADOS.....</b>	<b>41</b>
1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS, CLÍNICAS E PERINATAIS .....	41
2. DOSAGEM DE ESTRADIOL, PROGESTERONA E ÓXIDO NÍTRICO.....	43
3. CORRELAÇÕES ENTRE AS DOSAGENS DE ESTRADIOL, PROGESTERONA E ÓXIDO NÍTRICO E DEMAIS VARIÁVEIS .....	44
3.1 Relações com aspectos clínicos e laboratoriais.....	44

3.2 Relações entre hormônios, ON e dados perinatais.....	45
<b>V - DISCUSSÃO .....</b>	<b>47</b>
<b>VI - CONCLUSÕES .....</b>	<b>59</b>
<b>VII – REFERÊNCIAS.....</b>	<b>60</b>
<b>ANEXOS</b>	

## LISTA DE ABREVIATURAS

AIG	Adequado para idade gestacional
DHEG	Doença hipertensiva específica da gestação
DUM	Data da última menstruação
eNOS	Enzima óxido nítrico sintase endotelial
GCs	Guanilato ciclase solúvel
GIG	Grande para idade gestacional
GMP	Guanilato monofosfato
GMPC	Guanilato monofosfato cíclico
GN	Gestante normal / gestação normal
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HB	Hemoglobina
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
HCT	Hematócrito
hPL	Lactogênio placentário humano
IG	Idade gestacional
iNOS	Enzima óxido nítrico sintase isoforma induzível
ITU	Infecção do trato urinário
nNOS	Enzima óxido nítrico sintase neuronal
NO <sub>2</sub>	Nitrito
NO <sub>3</sub>	Nitrato

---

NOS	Enzima óxido nítrico sintase
NO <sub>x</sub>	NO <sub>2</sub> + NO <sub>3</sub>
ON	Óxido nítrico
P450 arom	Enzima aromatase
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
PE	Pré-eclâmpsia
PES	Pré-eclâmpsia sobreposta
PIG	Pequeno para idade gestacional
RN	Recém-nascido
SHBG	Globulina carreadora de hormônios sexuais
SHDEA	Sulfato de dehidroepiandrosterona
SPE	Síndrome de pré-eclâmpsia
TRH	Terapia de reposição hormonal
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

## **LISTA DE FIGURAS**

<b>FIGURA 1 – VASOCONSTRICÇÃO ARTERIAL NA PRÉ-ECLÂMPsia. ....</b>	<b>8</b>
<b>FIGURA 2 – NÍVEIS PLASMÁTICOS DE PROGESTERONA NA GESTAÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>FIGURA 3 – NÍVEIS PLASMÁTICOS DE ESTRADIOL, ESTRIOL E ESTRONA NA GESTAÇÃO. .....</b>	<b>17</b>
<b>FIGURA 4 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA VIA L-ARGININA E SÍNTESE DE ON NA CÉLULA ENDOTELIAL .....</b>	<b>22</b>
<b>FIGURA 5 – DOSAGEM DE ÓXIDO NÍTRICO (NOX) NAS GESTANTES ESTUDADAS.....</b>	<b>44</b>

## **LISTA DE TABELAS**

<b>TABELA 1 – CLASSIFICAÇÃO DA HIPERTENSÃO NA GESTAÇÃO.....</b>	<b>4</b>
<b>TABELA 2 – ESTUDOS SOBRE A RELAÇÃO ENTRE ESTRADIOL E PROGESTERONA COM A SÍNTESE DE ON .....</b>	<b>27</b>
<b>TABELA 3 – CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS, CLÍNICAS E LABORATORIAIS DAS GESTANTES COM SPE E DAS GESTANTES NORMAIS .....</b>	<b>42</b>
<b>TABELA 4 – DADOS PERINATAIS DAS GESTANTES COM SPE E DAS GESTANTES NORMAIS .....</b>	<b>43</b>
<b>TABELA 5 – DOSAGEM DE ESTRADIOL E PROGESTERONA NAS GESTANTES ESTUDADAS COM SPE E NAS GESTANTES NORMAIS.....</b>	<b>43</b>
<b>TABELA 6 – CORRELAÇÕES ENTRE AS CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS, CLÍNICAS E LABORATORIAIS DAS GESTANTES COM AS DOSAGENS SÉRICAS DE ESTRADIOL, PROGESTERONA E ON .....</b>	<b>45</b>
<b>TABELA 7 – CORRELAÇÕES ENTRE DADOS PERINATAIS COM DOSAGENS SÉRICAS DE ESTRADIOL, PROGESTERONA E ON .....</b>	<b>46</b>

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** a pré-eclâmpsia continua sendo a maior causa de morbidade e mortalidade materna e fetal e tem etiologia desconhecida. Na sua fisiopatologia, o vasoespasmó exerce um papel fundamental. Sabe-se que esta síndrome só ocorre na presença da placenta ou tecido trofoblástico e a liberação de fatores placentários estão associados às manifestações clínicas da pré-eclâmpsia. O objetivo deste trabalho é estudar os níveis séricos de estradiol, progesterona e óxido nítrico em gestantes nulíparas normais e com síndrome de pré-eclâmpsia (SPE).

**PACIENTES E MÉTODOS:** estudo de caso-controle em gestantes que realizaram pré-natal ou foram atendidas no Hospital São Lucas da PUCRS. Todas as mulheres incluídas estavam no terceiro trimestre de gestação, foram informadas do estudo e assinaram termo de consentimento. Gestantes com fertilização *in vitro*, isoimunização, patologia materna conhecida, múltiplos fetos, anormalidades cromossômicas conhecidas ou fetos malformados, pedido de abandono da pesquisa ou extravio das coletas laboratoriais foram excluídas. Foram retirados 10 mL de sangue, o soro foi estocado a  $-80^{\circ}\text{C}$  e as dosagens hormonais de estradiol e progesterona foram realizadas por radioimunoensaio. O óxido nítrico foi dosado por quimioluminescência.

Os dados foram analisados por estatística descritiva, teste *t* de Student e correlação de Pearson; com nível de significância  $\alpha \leq 0,05$ .

RESULTADOS: a amostra constituiu-se de 60 gestantes – 30 com síndrome de pré-eclâmpsia e 30 gestantes normais. Os níveis de estradiol e progesterona não foram estatisticamente diferentes entre os dois grupos (estradiol  $30,4 \pm 19,0$  ng/mL e progesterona  $574,1 \pm 227,0$  ng/mL nas pacientes com SPE e  $31,6 \pm 16,6$  ng/mL e  $640,9 \pm 358,1$  ng/mL respectivamente nas gestantes normais). O óxido nítrico também não foi diferente entre os 2 grupos (  $13.818,0 \pm 7603,9$   $\mu$ M na SPE e  $13.371,8 \pm 7801,9$   $\mu$ M nas gestantes normais).

CONCLUSÕES: os níveis séricos de estradiol, progesterona e óxido nítrico não tiveram diferença estatisticamente significativa entre gestantes nulíparas, no terceiro trimestre de gestação, com e sem síndrome de pré-eclâmpsia e os níveis séricos destes hormônios não são bons indicadores da fisiopatologia da pré-eclâmpsia.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** preeclampsia still remains as the main cause of fetal and maternal morbidity and mortality, with unknown etiology. Vasoconstriction plays a major role in its pathophysiology. It is known that this syndrome only occurs in the presence of placenta or trophoblastic tissue, and the release of placental factors is associated to the clinical manifestations of preeclampsia. The aim of the present study is to evaluate the serum levels of estradiol, progesterone and nitric oxide in normal nulliparous pregnant women and individuals with preeclampsia syndrome.

**PATIENTS AND METHODS:** Case-control study in pregnant women attending the antenatal care or the obstetrics service of Hospital São Lucas from PUCRS. All women were in the third pregnancy trimester, and gave informed consent. Exclusion criteria were *in vitro* fertilization, aloimmunization, known maternal disease, multiple pregnancies, known cromossomic abnormalities, fetal malformation, consent withdrawal or lack of laboratory data. Ten mL of blood were drawn, the serum was stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  and hormones were measured by radioimmunoassay. Nitric oxide was evaluated by chemoluminescence. Descriptive analysis, Student's *t* test, Pearson correlation coefficient were employed for statistical analysis, with  $\alpha \leq 0,05$  being significant.

**RESULTS:** The study sample consisted of 60 pregnant women – 30 with preeclampsia syndrome and 30 women with normal pregnancies. No significant difference between the two groups was detected for estradiol, progesterone or nitric oxide (estradiol  $30.4 \pm 19.0$

ng/mL; progesterone  $574.1 \pm 227.0$  ng/mL in preeclampsia syndrome and  $31.6 \pm 16.6$  ng/mL and  $640.9 \pm 358.1$  ng/mL in normal pregnancy respectively). Nitric oxide was not different between the two groups ( $13818.0 \pm 7603.9$   $\mu$ M in preeclampsia syndrome and  $13371.8 \pm 7801.9$   $\mu$ M in normal pregnancy).

CONCLUSIONS: serum levels estradiol, progesterone and nitric oxide were not significantly different between nulliparous women in the third pregnancy trimester with or without preeclampsia syndrome and serum levels of such hormones are not markers of the pathophysiology of preeclampsia.

# I - INTRODUÇÃO

## 1. Gestação e Adaptação Vascular

A gestação está associada a mudanças vasculares generalizadas, as quais são importantes para assegurar o bem-estar materno e fetal. Ocorre uma queda na resistência e na reatividade vascular, aumento do volume plasmático e do débito cardíaco e redução das respostas pressoras a vários vasoconstritores. A proporção de vários vasodilatadores em relação à vasoconstritores sofre alterações durante a gestação (Rezende e Coslovsky, 1998).

Com relação à circulação útero-placentária, ocorrem alterações relacionadas à invasão das artérias espiraladas, com diminuição da resistência vascular ao fluxo e aumento da redistribuição do fluxo sanguíneo, responsáveis pela perfusão sanguínea da placenta e importantes para um funcionamento adequado da mesma (Rezende e Coslovsky, 1998).

Atualmente, o período gestacional está sendo visto como um teste clínico de esforço para o corpo da mulher, porque para atender a demanda necessária ao desenvolvimento fetal, quase todos os órgãos necessitam aumentar sua performance (Poli de Figueiredo *et al*, 2003). Quando estas exigências fisiológicas gestacionais atingem os limites da capacidade funcional de alguns órgãos e/ou sistemas maternos, quadros patológicos podem instalar-se (Ferris, 1996).

## 2. Pré-eclâmpsia

A pré-eclâmpsia (PE) é caracterizada por um aumento da resistência vascular sistêmica, da reatividade vascular a agentes vasopressores e por alterações na distribuição do fluxo sanguíneo pélvico, os quais precedem o surgimento da hipertensão, sugerindo uma falha nos mecanismos de ajustes vasculares próprios da gestação (Wang e Walsh, 1997).

A expressão “Doença Hipertensiva Específica da Gestação “ (DHEG) foi adotada em 1944 por Golgdring e Chasis, embora muitos autores ainda usem outros termos como sinonímia para tal situação clínica. Entre os termos mais comumente utilizados, estão duas formas clínicas pelas quais se manifesta esta condição, que são a “pré-eclâmpsia “ (PE), que corresponde à DHEG em sua forma hipertensiva associada à proteinúria e a “eclâmpsia”, que é o desfecho em convulsão ou coma (Cunningham *et al*, 1997a; Neme, 1998).

A PE é, atualmente, uma síndrome específica da gestação que geralmente ocorre após a vigésima semana e caracteriza-se pela presença de hipertensão arterial e proteinúria patológica (Gifford *et al*, 2000), podendo envolver vários órgãos e sistemas do organismo materno e ocasionar muitos danos fetais (Brown, 1995).

Alguns fatores justificam um grande interesse no estudo da PE: a incidência, a morbiletalidade materna e perinatal e sua possível profilaxia através de um adequada assistênciapré-natal (Neme,1998; Ministério da Saúde, 2002).

A sua incidência gira em torno de 10 % das gestações e, segundo Neme, sua prevalência em hospitais universitários é de aproximadamente 25 a 28 % (Neme e Parpinelli, 2000). Nos EUA, a incidência dessa patologia está em torno de 6 a 8 % das gestações (Gifford *et al*, 2000). A morbiletalidade perinatal associada a esta patologia pode

chegar a 20 % em centros de referência (Cunningham *et al*, 1997a; Neme, 1998). No Hospital São Lucas da PUCRS a incidência de pré-eclâmpsia é de 4,6% em gestantes de baixo risco (Galão, 2000).

Diversos fatores ou condições intervêm na incidência da pré-eclâmpsia: hipertensão prévia, diabetes, idade materna, hereditariedade, paridade, gemelidade, mola hidatiforme, sazonalidade (relação com desfecho convulsivo), alimentação, hidropsia fetal, inserção placentária, PE em gestação anterior, raça negra, entre outros (Lenfant *et al*, 1990; Cunningham *et al*, 1997a; Caritis *et al*, 1998).

Condições maternas preexistentes como hipertensão e diabetes (Dietl, 2000; Walker, 2000; Esplin *et al*, 2001) ou patologias trombofílicas, como a síndrome anticorpo anticardiolipina, aumentam o risco de PE (Roberts e Cooper, 2001).

Caritis e colaboradores analisaram 2503 gestações de mulheres de alto risco para desenvolver PE e avaliaram fatores preditores de PE como: diabetes melito, HAS, gestação múltipla e PE prévia e relacionaram com a capacidade dos parâmetros fisiológicos, históricos e demográficos para predizer a ocorrência de PE; 19% das mulheres de todos os grupos desenvolveram PE. A doença foi mais freqüente em gestantes que tiveram elevação da pressão arterial média (PAM) além de 85mmHg no segundo trimestre e o risco tornou-se maior quando as pacientes eram nulíparas (Caritis *et al*, 1998).

Ainda existem muitas dificuldades para definir PE, devido às diferenças nas definições e nos critérios diagnósticos (Walker, 2000). Com relação à classificação da hipertensão na gestação, o grupo americano de trabalho sobre aumento da pressão arterial na gestação apresentou um consenso em 1990, recomendando que a classificação proposta pelo Colégio Americano de Ginecologia e Obstetrícia em 1972 fosse usada, por ser clara e simples (Lenfant *et al*, 1990). Recentemente, em 2000, este mesmo grupo definiu a classificação conforme apresentado na Tabela 1 (Gifford *et al*, 2000).

**Tabela 1 – Classificação da hipertensão na gestação**

---

TIPOS
<b>Hipertensão crônica:</b> Hipertensão presente ou observada antes da gravidez, ou diagnosticada antes de 20 semanas de gestação; diagnosticada pela primeira vez na gravidez, não desaparecendo no pós parto.
<b>Pré-eclâmpsia e eclâmpsia:</b> síndrome específica da gestação que ocorre normalmente após as 20 semanas de gestação, apresenta hipertensão acompanhada de proteinúria patológica. Eclâmpsia, quando ocorrem, na mulher com pré-eclâmpsia, convulsões não atribuídas a outras causas.
<b>Pré-eclâmpsia sobreposta na hipertensão crônica:</b> mulheres com hipertensão e sem proteinúria patológica no início gestação que passam a apresentar proteinúria patológica e/ou mulheres com hipertensão e proteinúria antes de 20 semanas de gestação que apresentem súbito aumento na proteinúria, súbito aumento da pressão sanguínea previamente bem controlada, trombocitopenia ou aumento da alanina aminotransferase ou aspartato aminotransferase para níveis anormais.
<b>Hipertensão gestacional:</b> mulheres com hipertensão detectada pela primeira vez depois das 20 semanas de gestação sem proteinúria: 1) hipertensão transitória da gravidez – se o diagnóstico não for de pré-eclâmpsia no momento do parto e a pressão sanguínea retornar ao normal dentro de 12 semanas pós-parto (diagnóstico retrospectivo). 2) hipertensão crônica – se a elevação persistir.

---

Devido ao fato de muitas vezes não se conseguir diferenciar pacientes com PE de pacientes hipertensas prévias sem diagnóstico e, em alguns estudos não se ter uma reavaliação 8 a 12 semanas pós-parto, Odegard et al, 2000 utilizaram o termo Síndrome de Pré-eclâmpsia (SPE) para estas pacientes.

A hipertensão da gestação é definida quando a pressão arterial sistólica (PAS) é maior que 140mmHg ou a pressão arterial diastólica (PAD) for maior que 90mmHg em uma mulher normotensa até as 20 semanas de gestação. O aumento dos níveis tensionais em 30mmHg na PAS e em 15mmHg na PAD após a 20<sup>a</sup> semana e a presença de edema não se enquadram mais como critério para o diagnóstico de hipertensão da gestação (Gifford *et al*, 2000).

Proteinúria patológica é definida quando a excreção urinária de proteínas for maior ou igual a 0,3g na urina de 24 horas (Gifford *et al*, 2000; Walker, 2000). Na pré-eclâmpsia

pode existir discrepância na determinação de proteínas entre a proteinúria de 24 horas e a de amostra. Quando não for possível realizar o exame completo, o resultado da proteinúria de amostra deve ser corrigido em função da excreção urinária de creatinina (Gifford *et al*, 2000).

### ***2.1 Etiopatogenia da pré-eclâmpsia***

A etiopatogenia da PE ainda é desconhecida. Segundo Zweifel, “a eclâmpsia é a moléstia das teorias”. O mecanismo último e desencadeante da moléstia persiste ignorado (Cunningham *et al*, 1997a ; Neme, 1998; Brown, 1995).

Atualmente, algumas teorias são consideradas para a etiologia da pré-eclâmpsia :

1 - Isquemia placentária – Aumento da deportação do trofoblasto, como conseqüência da isquemia, através da liberação de fatores citotóxicos podem infligir disfunção de células endoteliais (Dekker e Sibai, 1998).

2 - Lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) versus toxicidade e atividade preventiva Para compensar o aumento da demanda de energia durante a gestação, ácidos graxos não-esterificados são mobilizados. Em mulheres com baixa concentração de albumina, o aumento do transporte de ácidos graxos não-esterificados, do tecido adiposo para o fígado, provavelmente reduz a atividade antitóxica da albumina em relação ao VLDL, resultando em citotoxicidade e acúmulo de triglicerídeos sobre as células endoteliais (Dekker e Sibai, 1998).

3 - Má adaptação imune – Interação entre leucócitos da decídua e células invasoras do citotrofoblasto são essenciais para invasão e desenvolvimento normal do trofoblasto. A má adaptação imune pode dar origem a uma invasão mais superficial das artérias espiraladas através das células do citotrofoblasto endovascular e também disfunção das células

endoteliais causada por um aumento na liberação decidual de citocinas, enzimas proteolíticas e radicais livres (Dekker e Sibai, 1998).

4 - Disfunção endotelial - O endotélio materno apresenta disfunção generalizada (Kincaid-Smith, 1991). O aumento do volume da célula endotelial e a vacuolização do citoplasma (endoteliose glomerular), assim como a presença de depósitos fibrinóides sub-endoteliais (Kincaid-Smith e Fairley, 1993) são tidos como patognomônicos da pré-eclâmpsia.

5 - Fatores genéticos - A atividade gênica fetal apresenta para a mãe uma mistura das bagagens genéticas paterna e materna. Ainda que diminuída, a expressão gênica paterna é capaz de desencadear resposta imune na mãe (Dietl, 2000). Estudos epidemiológicos demonstraram que o risco de desenvolver a patologia aumenta com a mudança de paternidade e inseminação com gametas de doadores (Caritis *et al*, 1998). De modo que, quanto mais longa a exposição ao esperma de um parceiro antes da concepção e maior o número de gestações bem-sucedidas, menor é o risco (Walker, 2000). É possível que haja características da resposta imune materna ao trofoblasto invasor que determine a boa formação da placenta.

Embora se saiba que fatores genéticos influenciam a suscetibilidade à pré-eclâmpsia, padrões hereditários específicos ainda não foram descritos e estudos em gêmeos levaram a resultados conflitantes. Foram propostos alguns modelos hereditários que se ajustam às informações com a investigação de vários genes candidatos (Roberts e Cooper, 2001). Contudo, até hoje, os resultados são inconsistentes e, como a pré-eclâmpsia é uma doença multifatorial, é provável que vários genes estejam envolvidos (Broughton Pipkin, 1999).

Apesar dessas teorias serem descritas separadamente, é provável que haja uma interação entre elas para explicar a etiologia das alterações endoteliais que ocorrem na PE (Dekker e Sibai, 1998).

Para Redman, a PE é o resultado de um processo continuado e aumentado de deportação de trofoblasto para a circulação materna, o qual depende do aumento da apoptose ou necrose que ocorre devido à placentação deficiente – hipóxia, aterosclerose aguda e estresse oxidativo – e causa uma resposta inflamatória sistêmica excessiva, dependente de uma disposição genética prévia, e leva a uma disfunção endotelial (Redman e Sargent, 2001).

Com relação aos estudos hormonais (“teorias hormonais”), existe a teoria coriogonadotrófica, que merece ser salientada. Em 1948, Smith e Smith observaram que no decurso da PE ocorria elevação dos níveis de hCG e queda progressiva de estrogênios e progestogênios, estabelecendo-se inversão da curva hormonal da gestação normal. Estes foram os primeiros estudos relacionados a alterações hormonais e PE (Neme, 1998).

## ***2.2 Fisiopatologia da pré-eclâmpsia***

As duas características primárias na fisiopatologia da pré-eclâmpsia são: a implantação placentária defeituosa (invasão superficial do citotrofoblasto endovascular nas artérias espiraladas) e disfunção das células endoteliais (Isler e Martin, 2002).

Apesar das alterações nas artérias espiraladas terem um papel principal na fisiopatologia da PE, a relação precisa entre as alterações histopatológicas no leito placentário e as diferentes desordens hipertensivas com suas manifestações clínicas necessita ser estabelecida (Pijnenborg *et al*, 1991). A inibição da invasão trofoblástica dessas artérias nos distúrbios hipertensivos da gestação não significa um processo uniforme ou um fenômeno “tudo ou nada”; a invasão trofoblástica e as alterações fisiológicas nessas desordens podem ser parciais ou incompletas (Meekins *et al*, 1994).

Na pré-eclâmpsia, as alterações fisiológicas das artérias espiraladas estão confinadas à porção decidual. Aproximadamente 30 a 50% das artérias espiraladas do leito

placentário escapam inteiramente da invasão do trofoblasto endovascular. O segmento miometrial permanece anatomicamente intacto e não dilatado; e a inervação adrenérgica das artérias espiraladas, inalterada (Pijnenborg *et al*, 1991).

Alterações isquêmicas placentares podem ser vistas pela diminuição do fluxo útero-placentário. A Figura 1 mostra a luz das artérias útero-placentárias na PE e em gestantes normotensas (Neme e Parpinelli, 2000).

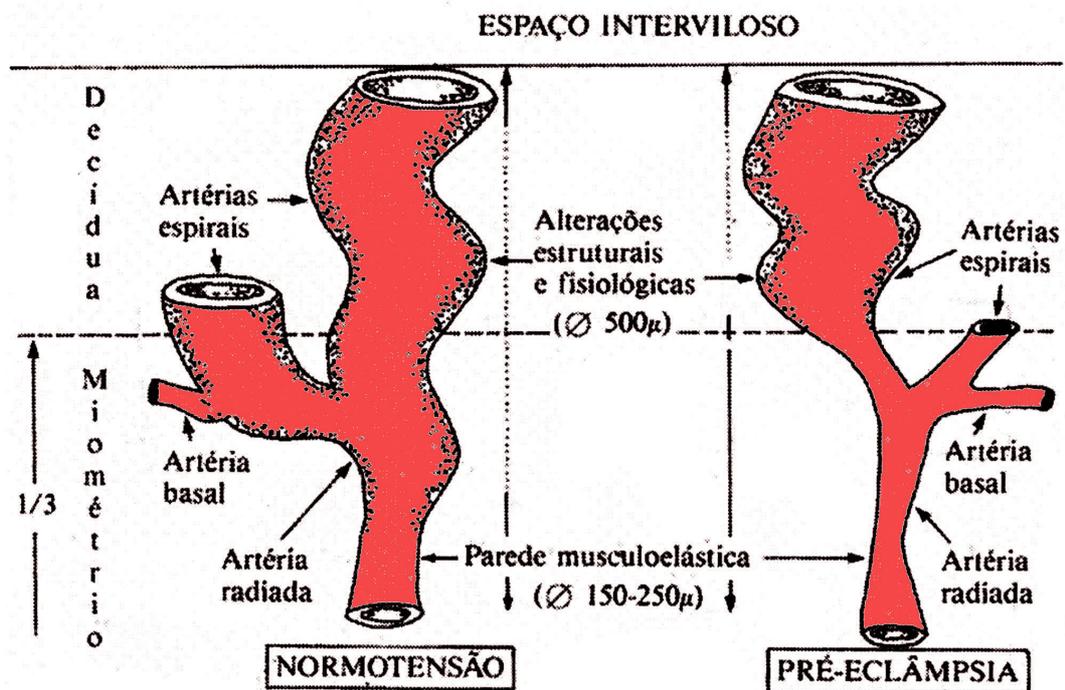


Figura 1 – Vasoconstrição arterial na pré-eclâmpsia.

Adaptada de Neme B (Neme e Parpinelli, 2000).

A implantação placentária defeituosa leva à isquemia placentária, diminuindo o fluxo deste órgão, e essa, à disfunção endotelial, ocasionando vasoespasmo e diminuindo conseqüentemente a perfusão dos diversos órgãos maternos (Isler e Martin, 2002).

A disfunção endotelial é caracterizada pela ativação do sistema de coagulação e alterações em muitos sistemas humorais e autacóides, ambos relacionados ao controle do volume e pressão sanguínea (Granger *et al*, 2001b).

O comprometimento da perfusão útero-placentária por vasoespasmos aumenta a morbidade perinatal associada com a pré-eclâmpsia, pois este pode levar a áreas de necrose e infarto placentário, produzindo uma redução no aporte de nutrientes ao feto, o que pode resultar em crescimento intra-uterino restrito (Cunningham *et al*, 1997a).

### **3. Placenta e hormônios placentares**

A placenta intercomunica mãe e feto, mantendo a integridade imune e genética de ambos os indivíduos (Taylor *et al*, 2001). Ela supre o feto quanto às necessidades de alimentação, respiração e excreção (Yen, 1991). É um órgão com propriedades únicas, de anatomia complexa e estabelecimento transitório; em nove meses de vida seu processo de desenvolvimento se completa. Ao final desse tempo, este órgão atinge o fim de suas funções, e gestações que se prolongam após esse período tornam-se perigosas devido ao rápido declínio da função placentária. Como características anatômicas, uma parte é retirada do útero após o nascimento do feto e a outra parte permanece dentro da parede uterina. Esta última tem seu estudo dificultado e pouco realizado (Fisher, 2000).

Após a fecundação, o ovo se divide, recebendo em torno do quarto dia, o nome de blastocisto. Contém um pólo com uma massa compacta de células que está destinada a produzir o embrião, e uma outra que dá origem ao trofoblasto. O trofoblasto é formado por duas principais camadas: o citotrofoblasto, cuja borda é bem definida, as células possuem

núcleo simples e distinto e apresentam mitoses freqüentes e a outra, chamada de sinciciotrofoblasto (derivada da anterior), se apresenta com o citoplasma amorfo, sem bordas celulares e com núcleos múltiplos de diversos tamanhos e formas. O sinciciotrofoblasto surge por diferenciação do citotrofoblasto (Cunningham *et al*, 1997b).

O sinciciotrofoblasto é a célula funcional da placenta e o principal sítio de produção hormonal e protéica na gestação. O controle dessa importante diferenciação celular ainda não está bem compreendido. A superfície do sinciciotrofoblasto está em contato direto com o sangue materno no espaço intervilosos. Essa pode ser a explicação do fato de que os hormônios placentários são secretados preferencialmente “dentro da mãe” (Speroff *et al*, 1995).

O trofoblasto garante a fixação do blastocisto à parede da cavidade uterina (superfície endometrial), e a implantação no útero que ocorre em 8 a 10 dias após a fecundação. Após, invade o endométrio e, através de colunas de invasão do citotrofoblasto, ancora a placenta ao endométrio (Taylor *et al*, 2001). Nos humanos, a invasão das células do trofoblasto para dentro do endométrio decidualizado e para o terço interno do miométrio, é de vital importância para a ancoragem da placenta e a conexão com o sistema vascular materno. A extensão da invasão endovascular pelo trofoblasto é um processo que depende do equilíbrio entre o potencial de invasão do citotrofoblasto endovascular e a resposta materna (Meekins *et al*, 1994).

As células do trofoblasto endovascular restabelecem o endotélio das artérias espiraladas e então invadem a camada média, resultando em destruição do tecido elástico medial, muscular e neural. Essas alterações fisiológicas criam um sistema arteriolar de baixa resistência e provocam uma falha no controle vasomotor materno, o que permite um aumento importante no suprimento sangüíneo, necessário para o crescimento do feto. Essas

modificações, portanto, transformam o suprimento vascular placentário de alta pressão e baixo fluxo, em um de baixa pressão e alto fluxo (Pijnenborg *et al*, 1980).

Todas essas alterações circulatórias sistêmicas e locais, ocasionadas pela presença do concepto, caracterizam o esforço do organismo materno em criar condições adequadas para o desenvolvimento fetal, através da perfeita oferta de oxigênio e nutrientes conduzidos pela placenta. Os fatores que regulam a perfusão útero-placentária, porém, ainda não estão bem conhecidos.

O sinciciotrofoblasto está em contato direto com a circulação materna e é a maior fonte de produção hormonal, pois contém a maquinaria celular necessária para síntese, armazenamento e secreção dos hormônios esteróides e polipeptídeos. Após 24 horas de implantação do embrião, a gonadotrofina coriônica humana (hCG) é detectada no sangue materno (Taylor *et al*, 2001). A produção de hormônios esteróides e protéicos pelo trofoblasto humano é maior, tanto em quantidade como em diversidade, que a de qualquer tecido endócrino conhecido na fisiologia dos mamíferos. Além dos hormônios esteróides, como estrógenos e progesterona, a placenta humana produz uma enorme quantidade de proteínas e hormônios peptídicos, como: lactogênio placentário, hCG, adrenocorticotrofina coriônica, tireotrofina coriônica, variante do hormônio de crescimento, proteína relacionada ao hormônio paratireoideo, calcitonina, relaxina e uma variedade de hormônios semelhantes aos hipotalâmicos de liberação e inibição, incluindo a somatostatina e os liberadores de tireotrofina, gonadotrofina, corticotrofina e crescimento. A placenta humana também produz inibina, ativina e peptídeo natriurético atrial (Cunningham *et al*, 1997c).

Segundo Rozas (2000), em 1927 Ascheim e Zondek demonstraram a presença do hormônio da gravidez na urina, fato que serviu de base para considerar a placenta como um órgão endócrino. Entretanto, somente em 1938, Gey Jones e Hellman constataram a produção de gonadotrofina coriônica humana por células trofoblásticas mantidas em

cultura de tecido, provando, então, a origem placentária do hormônio. Posteriormente, as pesquisas tiveram continuidade por métodos histoquímicos –Wislocki e Bennet (1943)–, imunológicos –Midgley Jr e Pierce Jr (1962)– e microscopia eletrônica –Wynn e Davis (1965).

A esteroidogênese na unidade fetoplacentária não obedece aos mecanismos convencionais da produção de hormônios dentro de um órgão único; os produtos finais resultam de interações de sistemas de órgãos separados, os quais individualmente não possuem as capacidades enzimáticas necessárias. Pode-se encontrar 3 compartimentos: fetal, placentário e materno. Os dois primeiros, separadamente, são desprovidos de certas atividades esteroidogênicas. Em conjunto, eles formam uma unidade completa, a qual utiliza o compartimento materno como fonte de “substâncias de construção básicas” e como recurso para depuração de esteróides (Speroff *et al*, 1995).

Em localização estratégica como ponto intermediário entre mãe e feto, a placenta pode utilizar precursores a partir da mãe ou do feto para contornar suas próprias deficiências em atividades enzimáticas. Mensagens hormonais a partir do conceito são capazes de afetar os processos metabólicos, o fluxo sanguíneo uteroplacentário e a diferenciação celular (Guyton, 1997).

Inicialmente a placenta funciona de uma maneira autônoma. No final do primeiro trimestre, o sistema endócrino fetal é suficientemente desenvolvido para influenciar no funcionamento placentário e produzir alguns hormônios precursores para a placenta – unidade feto-placentária. As células da decídua são capazes de sintetizar uma variedade de hormônios peptídicos, incluindo prolactina, relaxina e uma variedade de fatores parácrinos (Taylor *et al*, 2001).

#### 4. Estrogênios e progestogênios

Os progestogênios são esteróides naturais que possuem 21 átomos de carbono e surgem em primeiro lugar no processo geral de esteroidogênese, tendo como principais representantes a progesterona e os dois isômeros da pregnenolona. A progesterona é a pregnenodiona, que é o primeiro hormônio esteróide natural da série originada a partir do colesterol. Foi isolada do corpo amarelo em 1929 e da placenta em 1952. Ela é produzida pelo corpo amarelo nas 10 semanas iniciais da gravidez (células da granulosa) e após, pela placenta (sinciciotrofoblasto) (Speroff *et al*, 1995; Rezende e Linhares, 1998).

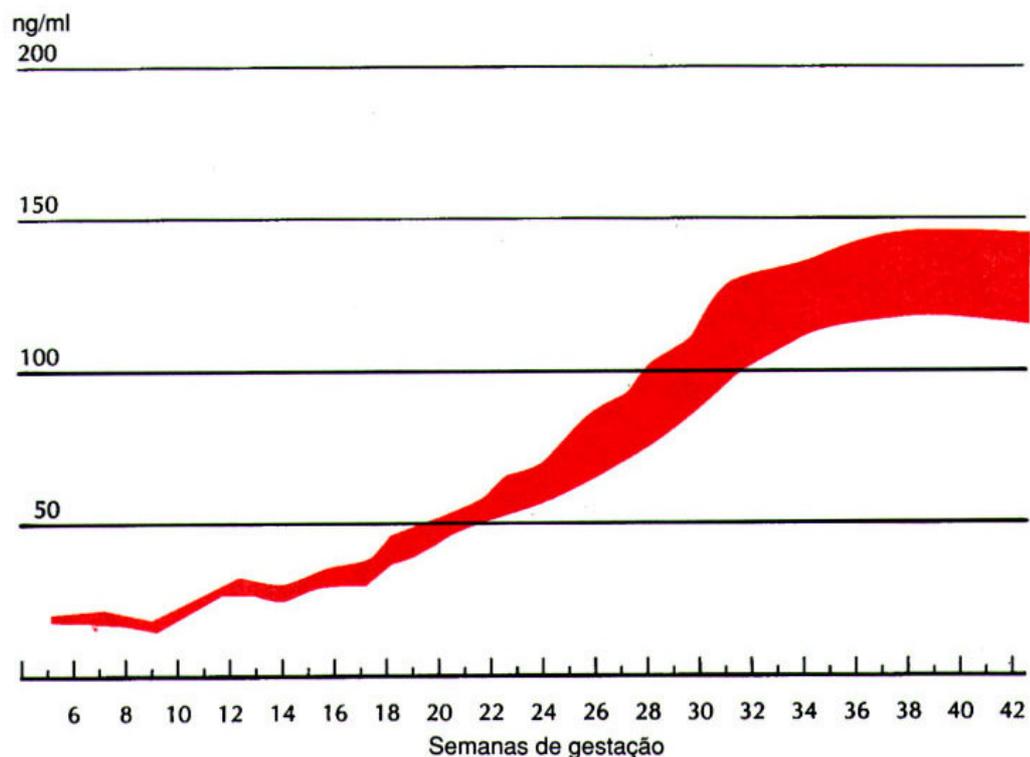
Para a elaboração de progestogênios a placenta utiliza apenas precursores maternos, que neste caso é o colesterol materno. O colesterol materno, bem como a pregnenolona (menos que 10%) são obtidos a partir da corrente sangüínea materna para a síntese de progesterona. A produção de progesterona pela placenta independe da quantidade de precursores disponíveis, da perfusão uteroplacentária, do bem-estar fetal ou mesmo da presença de feto vivo. Isso se explica pelo fato do feto não contribuir com nenhum precursor. A contribuição fetal é desprezível, pois as concentrações de progesterona permanecem altas mesmo em casos de óbito fetal. Dawood (1976) concluiu que a progesterona não é um bom indicador de função placentária. Assim, a quantidade de progesterona produzida na gravidez depende da cooperação placentário-materna (Dawood, 1976; Speroff *et al*, 1995).

A metabolização é feita principalmente no fígado, dando origem a vários metabólitos. A maior parte dos metabólitos é excretada pelos rins, dos quais o pregnandiol é o principal representante (15 a 20%) (Guyton, 1997).

Cabe salientar que o valor preditivo das dosagens de progesterona *per se* é limitado na gestação, pois existe uma grande variação individual, podendo-se encontrar níveis

circulantes muito baixos em mulheres que tem gestações bem sucedidas (Speroff *et al*, 1995).

Com relação aos níveis plasmáticos, a produção diária de progesterona aumenta de 40ng/ml no primeiro trimestre para até 200ng/ml no termo (cerca de 10 vezes a produção cíclica mensal da mulher não-gestante). A maior parte da progesterona produzida na placenta entra na circulação materna. Os níveis plasmáticos de progesterona durante a gestação estão ilustrados na Figura 2 (Speroff *et al*, 1995).



**Figura 2 – Níveis plasmáticos de progesterona na gestação.**

**Adaptada de Speroff (Speroff *et al*, 1995).**

Os estrogênios são hormônios esteróides que contém 18 átomos de carbono e representam o produto final da série de hormônios esteróides. Sua secreção envolve a presença de todas as atividades enzimáticas condutoras de esteroidogênese (Guyton, 1997).

Mais de 20 estrógenos foram determinados no plasma e na urina da gestante, mas existem somente 3 estrógenos principais, presentes em quantidades significativas no plasma, que são a estrona, o estradiol e o estriol (Guyton, 1997).

O estriol é um produto oxidativo derivado da estrona e do estradiol e produzido principalmente pela conversão hepática. O estradiol é o mais potente e o seu efeito estrogênico é muitas vezes maior que os outros dois compostos juntos; por esse motivo ele é considerado o principal estrogênio (Speroff, 1995).

Os compostos androgênicos utilizados para a síntese de estrógenos na gravidez são, nos primeiros meses de gestação, derivados da corrente sanguínea materna. A partir das 20 semanas surgem os andrógenos fetais. Na gravidez inicial o corpo amarelo é o principal responsável pela produção do estradiol, seu principal produto (células da teca). Após 8 semanas, os níveis de estradiol têm uma ascensão mais acentuada, traduzindo a participação da placenta, a qual produz, de modo crescente progressivo, quantidade notável de estrógenos durante a gravidez, produzidos pelo sincíotrofoblasto (Rezende e Linhares, 1998; Rozas, 2000).

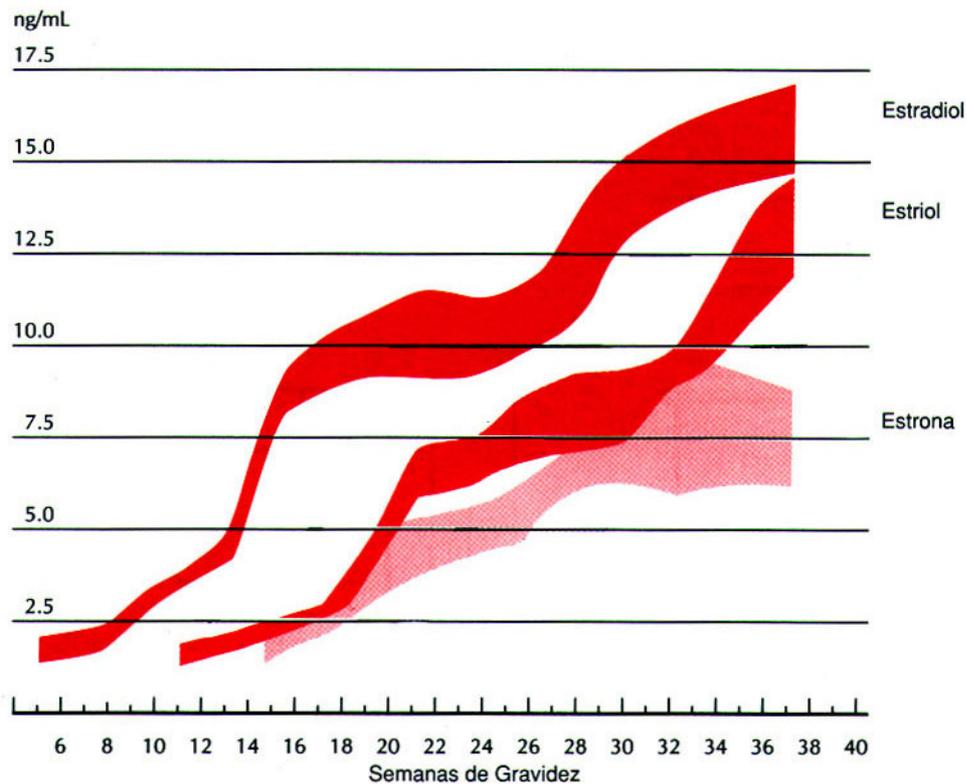
A placenta é um órgão incompleto para a biossíntese estrogênica e carece das enzimas necessárias para a transformação dos progestágenos em andrógenos. Os precursores básicos dos estrógenos são os androgênios de 19 carbonos e a síntese dos estrógenos na placenta se faz às custas de precursores andrógenos: S-DHEA (sulfato de dehidroepiandrosterona), precursor do estradiol e da estrona, o qual provém da supra-renal materna e fetal e o S-16- $\alpha$ -hidro-DHEA (sulfato de 16-alfa-hidro-dehidroepiandrosterona), precursor do estriol, fornecido quase na totalidade pela supra-renal do feto. A enzima P450 arom (aromatase) é responsável pela aromatização dos andrógenos a estrógenos (Speroff *et al*, 1995; Cunningham *et al*, 1997c).

Com relação à metabolização, os estrógenos livres liberados pela placenta são conjugados no fígado e eliminados pelo rim (Speroff *et al*, 1995; Guyton, 1997).

Como a gravidez é caracterizada por um grande aumento nas concentrações de estrógenos maternos e a sua produção é dependente da interação esteroidogênica fetal e placentária, a quantidade de estrógenos presentes na circulação materna reflete, ao mesmo tempo, a capacidade enzimática e o bem-estar fetal e placentário. O produto final a ser dosado na circulação materna é influenciado por muitos fatores: a disponibilidade de precursores a partir da glândula adrenal fetal - requisito primordial, bem como a capacidade da placenta de executar a conversão. O metabolismo materno do produto, assim como a eficácia da excreção renal materna podem modificar a quantidade diária de estrógenos na urina (Speroff *et al*, 1995).

O fluxo sanguíneo do compartimento feto-útero-placenta torna-se importante. Em situações de hipoxemia fetal por redução do fluxo placentário, pode ocorrer aumento dos níveis de estrógenos maternos devido a uma produção aumentada de andrógenos. Em situações de estresse agudo (ao contrário da insuficiência placentária crônica), ocorre redução nos andrógenos fetais e estrógenos maternos (Liao *et al*, 1996).

Os níveis plasmáticos de estradiol e de estrona aumentam cerca de 100 vezes e o estriol cerca de 1000 vezes em relação aos níveis pré-gravídicos, de tal maneira que, próximo ao termo, ocorre um estado hiperestrogênico, conforme mostra a Figura 3 (Speroff *et al*, 1995).



**Figura 3 – Níveis plasmáticos de estradiol, estriol e estrona na gestação.**

**Adaptado de Speroff (Speroff *et al*, 1995).**

## **5. Hormônios esteróides femininos e alterações vasculares**

Os hormônios femininos são muito reconhecidos como tendo influência na suscetibilidade a doenças vasculares, embora pouco se conheça sobre os mecanismos celulares pelos quais eles exercem suas funções. Sabe-se que existe uma associação paradoxal entre o estrogênio e a progesterona e a proteção contra algumas doenças vasculares e a suscetibilidade a outras (White *et al*, 1995; Orshal e Khalil, 2004).

Vários outros estudos apontam para uma função dos esteróides sexuais femininos favorecendo o equilíbrio dos vasodilatores em relação aos vasoconstritores no endotélio vascular e músculo liso subjacente no controle vascular (White *et al*, 1995; Liao *et al*,

1996; Thompson e Khalil, 2003; Orshal e Khalil, 2004). Estudo de Sanyal *et al* em cultura de células endoteliais umbilicais, mostrou que o efeito vasodilatador do estrogênio pode ser dose-dependente (Sanyal *et al*, 2000).

Devido às intensas alterações hormonais que ocorrem na gravidez, e também ao fato da progesterona e do estrogênio interagirem com o sistema renina-angiotensina-aldosterona, muitos estudos tentam esclarecer melhor qual o papel dos hormônios esteróides sexuais no sistema vascular. Sabe-se que o volume plasmático e a concentração de sódio são primariamente regulados pelo sistema renina-angitensina-aldosterona, e que na gestação normal ocorre aumento do volume plasmático, retenção de sódio e redução da resistência vascular; isto está relacionado a um aumento da complacência vascular, aumento das prostaglandinas (vasodilatadoras) e hiporresponsividade à angiotensina II (Novak e Kaufman, 1991).

Na gestação normal existe aumento das concentrações plasmáticas dos componentes do sistema renina-angitensina-aldosterona em comparação com mulheres não-gestantes. Na SPE o sistema renina-angiotensina-aldosterona é suprimido e os níveis de angiotensina II são mais baixos que na gestação normal; no entanto a resposta pressora à angiotensina II encontra-se aumentada. Existe muita controvérsia sobre os efeitos do estradiol e da progesterona na resposta pressora à angiotensina II na gestação. Há relatos de que a administração de estrogênios promove uma redução da resposta pressora da angiotensina II, enquanto outros não identificaram efeito algum. Com relação à progesterona, os efeitos da sua administração também são controversos (Novak e Kaufman, 1991; Baylis *et al*, 1998; Boywer *et al*, 2003).

Receptores de estrogênio, progesterona e testosterona têm sido identificados em células vasculares endoteliais e a interação dos hormônios com esses receptores proporciona, além de modificações na expressão gênica à longo prazo, respostas agudas

imediatas e não-genômicas. As vias de ativação endotelial utilizadas pelos hormônios esteróides sexuais para promover vasodilatação incluem a síntese de óxido nítrico (potente vasodilatador), GMPc (guanilato monofostato cíclico), prostaciclina, endotelina I, eicosanóides, entre outros. Além disso, eles também podem inibir os mecanismos de contração do músculo liso vascular, através dos canais de cálcio e da proteína C reativa. (Thompson e Khalil, 2003).

Um importante fator a ser considerado são os efeitos isolados e os efeitos combinados dos hormônios esteróides, bem como os efeitos agudos e os efeitos crônicos dos mesmos. Até o momento, não existem informações suficientes sobre as diferenças entre os níveis circulantes de estrogênio e progesterona, suas flutuações ou suas proporções em mulheres com condições vasoespásticas alteradas (White *et al*, 1995; Wang e Walsh, 1997; Orshal e Khalil, 2004).

O estrogênio, de maneira geral, afeta o sistema vascular diminuindo o tônus e aumentando as respostas dilatadoras endotélio-dependentes nos vasos sanguíneos (White, 2002).

Algumas modificações no sistema cardiovascular da gestante também são, em parte, resultado da ação dos estrogênios: o volume plasmático é aumentado pelos estrogênios, como resultado do estímulo do sistema renina-angiotensina (ocasionando maior produção de aldosterona, com reabsorção de sódio e água), os estrogênios também induzem vasodilatação no leito vascular útero-placentário, elevando o fluxo sanguíneo e a maior proporção da neovascularização placentária que ocorre no I trimestre (angiogênese), também é atribuída aos estrogênios (Liao *et al*, 1996; Huang *et al*, 1997; Wang e Walsh, 1997).

Alguns estudos sugerem que o nível de receptores na vasculatura uterina é alterado por mudanças no perfil hormonal. As artérias espiraladas do útero demonstram uma

variação na impregnação em receptores de estrogênio e de progesterona conforme a evolução da gestação (White *et al*, 1995; Wang e Walsh, 1997).

Alguns possíveis mecanismos pelos quais o estrogênio poderia modular a vasodilatação endotélio-dependente seriam efeitos sobre o número e/ou sensibilidade dos receptores colinérgicos, modificação do influxo de cálcio, indução da ON sintase e aumento da síntese do ON (Storment *et al*, 2000). Cabe salientar que o mecanismo exato de como o estrogênio estimula a liberação de ON ainda não está totalmente compreendido e os efeitos agudos e crônicos do estrogênio podem ser diferentes (Seligman *et al*, 1991; Wang e Walsh, 1997; Storment *et al*, 2000).

Em estudos mais antigos foi sugerido uma associação entre a pré-eclâmpsia e baixos níveis sérios de 17- $\beta$ -estradiol (Dawood e Ratnam, 1974; Tulchinsky e Okada, 1975). No entanto as conclusões destes estudos são limitadas pelo baixo número de pacientes, pela ausência de critérios diagnósticos rigorosos para a pré-eclâmpsia e pela probabilidade de que os níveis baixos de estradiol fossem devidos a outras condições obstétricas.

Tem-se conhecimento de um efeito vasodilatador do estradiol na circulação uterina. Em estudos nos quais foi administrado, aguda ou cronicamente, 17- $\beta$ -estradiol a animais ooforectomizadas (ratas), houve redução da resistência vascular uterina e sistêmica, aumento acentuado do fluxo sanguíneo uterino e redução da resposta pressora à angiotensina II. Entretanto, os efeitos vasodilatadores da administração de estradiol não são consistentes através das espécies ou de preparações para estudos de formas diferentes (Rosenfeld e Jackson, 1984)

Com relação à progesterona, sua participação no relaxamento vascular ocorre através de sua interação com receptores na musculatura lisa vascular, promovendo inibição da proliferação da musculatura lisa e crescimento das células endoteliais, ativação da

produção de GMPc através da via L-arginina-óxido nítrico, aumento da produção de prostaciclina e, adicionalmente, pode também ocorrer inibição dos mecanismos sinalizadores da contração do músculo liso vascular (Orshal e Khalil, 2004).

Dada a natureza prolongada da estimulação hormonal da gestação, e visto que a maior parte dos estudos são relacionados com o estradiol, deve-se procurar descobrir qual a participação da progesterona na vasodilatação associada à gestação. O possível envolvimento da progesterona está sendo questionado em vários estudos no que diz respeito a uma combinação com o estrogênio para reduzir a resposta pressora à angiotensina II (Buhimschi, 1995; White *et al*, 1995).

## **6. Via L-arginina/ON, esteróides e reatividade vascular**

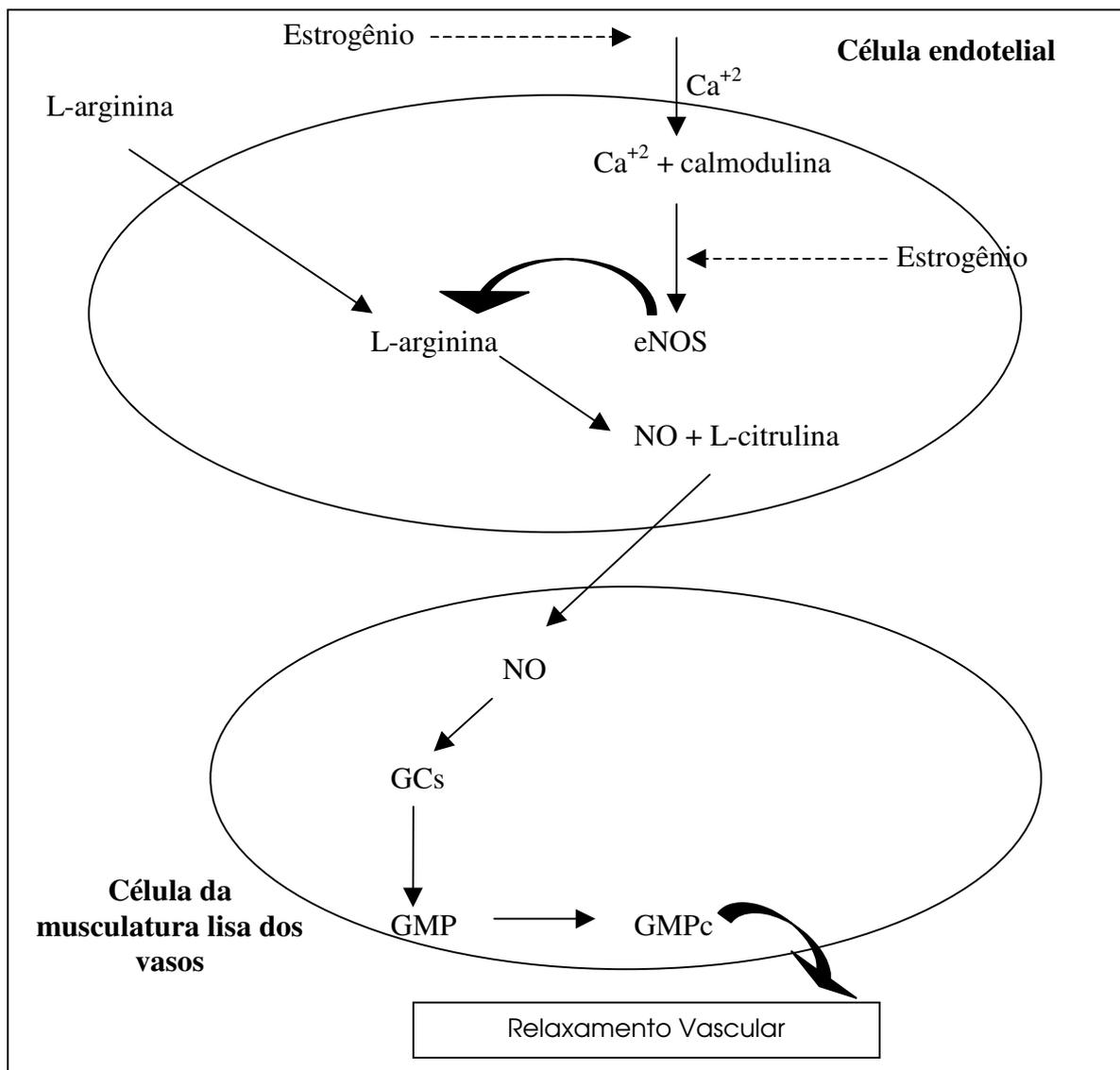
O óxido nítrico é um importante mediador parácrino de vários processos biológicos, como o controle vascular e os processos inflamatórios. Atualmente muito tem se discutido a respeito do papel da via L-arginina-óxido nítrico nos processos de adaptação hemodinâmica e controle da pressão arterial (Chawalisz e Garfield, 2000).

Têm-se conhecimento de níveis aumentados de óxido nítrico durante o período gestacional. Buhimschi encontrou uma maior quantidade de óxido nítrico em ratas prenhas quando comparadas com animais da mesma espécie em outros estados fisiológicos, sugerindo que a sua produção é dependente dos níveis circulantes de hormônios esteróides sexuais, e, portanto, do estado reprodutivo do animal (Buhimschi *et al*, 2000).

O ON é uma pequena molécula lipofílica que, juntamente com o GMPc (guanilato monofosfato cíclico), desempenha papel fundamental na manutenção do tônus vascular. O ON é um gás biologicamente ativo e sua produção depende da L-arginina circulante

(Moncada *et al*, 1991). A L-arginina é um aminoácido precursor do ON (Palmer *et al*, 1998).

A partir da L-arginina, é removido um átomo terminal de nitrogênio guanidino para produzir uma molécula de L-citrulina e uma molécula de ON através da enzima óxido nítrico sintase (NOS). O ON difunde-se pela membrana das células endoteliais e da musculatura lisa dos vasos, sinalizando a enzima guanilatociclase solúvel a ativar a formação de GMPc, o qual é responsável pelo relaxamento vascular, conforme mostra a Figura 4 (Moncada *et al*, 1988).



**Figura 4 – Representação esquemática da via L-arginina e síntese de ON na célula endotelial**

A enzima óxido nítrico sintase (NOS) apresenta, atualmente, três isoformas classificadas conforme o seu local de ação: eNOS (endotelial), iNOS (isoforma induzível, específica de macrófagos) e a nNOS (neuronal). O ON é produzido pela eNOS no endotélio em baixas quantidades e sua função é promover vasodilatação e inibição da agregação plaquetária. A isoforma iNOS é capaz de produzir ON em altas concentrações e está relacionada com processos inflamatórios; a nNOS é responsável pela formação desta molécula no tecido neuronal participando do processo sináptico (Chwalisz e Garfield, 2000; Sanyal *et al*, 2000).

A síntese do ON é realizada por uma variedade de tecidos e células (endotélio, cerebelo, hepatócitos, macrófagos e plaquetas), mas a sua produção principal é através das células endoteliais, estando envolvido na regulação do tônus da musculatura lisa vascular (Palmer *et al*, 1987). Outra função do ON é contribuir para a manutenção da regulação da pressão arterial, através da ação na luz dos vasos sobre as plaquetas (Radomski *et al*, 1987; Moncada *et al*, 1991; Graaf *et al*, 1992).

O ON é um gás incolor, solúvel e muito instável eletroquimicamente, transformando-se em vários íons, entre eles,  $\text{NO}_2$  e  $\text{NO}_3$ . Ao conteúdo total destes compostos é dado o nome de  $\text{NO}_x$  (Bonner, 1996).

Os metabólitos  $\text{NO}_2$  e  $\text{NO}_3$  resultam da oxidação do ON pela reação com a água do plasma sanguíneo, e também podem ser encontrados na urina, constituindo um marcador de sua produção renal (Baylis e Vallance, 1998). *In vivo*, trabalhos mostram valores de ON entre 10 e 400 nM (Malinski e Taha, 1992).

Em 1980, Robert Furchgott descobriu que o endotélio libera um fator promotor do relaxamento vascular, denominado Fator Relaxante Derivado do Endotélio (Furchgott e Zawadzki, 1980) e, posteriormente em 1986, Ignarro e Furchgott identificaram este fator como sendo o óxido nítrico (Furchgott e Vanhoutte, 1989).

A produção basal de ON possui um papel importante na regulação da pressão arterial e do fluxo sanguíneo (Moncada *et al*, 1988), pois contribui para a resposta de vasodilatadores dependentes do endotélio *in vivo* (Moncada, 1997). O ON participa também da regulação da contratilidade miocárdica, imunomodulação e neurotransmissão. Portanto, a sua redução no sistema efector pode estar envolvida na patogênese da hipertensão, angina, vasoespasma e aterosclerose. Por outro lado, o seu aumento excessivo pode associar-se à hipotensão, sepse, choque, depressão miocárdica e respostas inflamatórias (Moncada *et al*, 1991, Änggard, 1994).

Existem muitos trabalhos avaliando os níveis de ON em mulheres em diversas condições clínicas. Encontra-se muita variação na gestação normal e na pré-eclâmpsia entre os diferentes autores, sem, aparentemente, uma justificativa para a existência de tais diferenças. Pathak encontrou níveis aumentados de NOx em gestantes com pré-eclâmpsia e relacionou tais achados com a gravidade da patologia (Pathak *et al*, 1999). Lyall *et al* (1995), Davidge *et al* (1996), Conrad *et al* e Hata *et al* (1999) não encontraram diferenças significativas nas dosagens de NOx entre os dois grupos de gestantes. Seligman *et al* (1994) foram os únicos autores que encontraram uma diminuição do NOx na pré-eclâmpsia, concluindo que este decréscimo contribui para a fisiopatogenia desta síndrome.

O comprometimento endotelial na gênese da pré-eclâmpsia é reconhecido com comprovação morfológica e bioquímica. Há evidências de que alterações na formação de vasodilatadores endógenos de ação local estejam associadas ao mecanismo inicial na patogênese da hipertensão na pré-eclâmpsia. Diante disso, tem sido estudada a administração via oral do aminoácido L-arginina, como agente vasodilatador (Facchinetti *et al*, 1999).

As evidências e questionamentos sobre o papel da via L-arginina-óxido nítrico na pré-eclâmpsia e na gestação normal ainda não têm resultados conclusivos (Podjarny *et al*,

1994). Com relação aos esteróides sexuais, alguns estudos apontam sua associação com a produção de ON e, postula-se, um efeito vasodilatador. Os níveis séricos de  $\text{NO}_2$  e  $\text{NO}_3$  encontram-se elevados durante a fase folicular do ciclo menstrual em associação com o aumento dos níveis de estradiol, sugerindo que a produção de ON é dependente dos níveis circulantes de estrogênio (White *et al*, 1995).

Vários estudos experimentais sugerem que as alterações fisiológicas nos hormônios femininos modulam a função das células endoteliais através de efeitos sobre a produção ou atividade do ON (Darkow *et al*, 1997; Rosenfeld *et al*, 2000; Abou-Mohamed *et al*, 2003). A gestação tem sido associada à uma maior liberação de ON, sendo que estes efeitos são similares àqueles observados com a administração de estradiol, sugerindo que as alterações associadas à gestação são mediadas, pelo menos em parte, pelo estradiol. Em fêmeas de coelhos ooforectomizadas, 80% do aumento no fluxo da artéria uterina ocasionada pela infusão aguda de estradiol, foi bloqueado pela administração do inibidor da síntese de ON (nitro-L-arginina-metil-ester, ou, L-NAME). A possibilidade de que o estradiol aumente a síntese de ON foi apoiada pela observação de que a resposta ao fluxo uterino poderia ser revertida com a administração de L-arginina (Van Buren *et al*, 1992).

Estudos em várias espécies mostram que o estradiol modula o relaxamento endotélio-dependente em vários leitos vasculares por meio de um aumento na atividade da enzima ativadora da produção do ON (NOS) (Darkow *et al*, 1997; Abou-Mohamed *et al*, 2003).

Outro possível mecanismo vasodilatador do estrogênio é através de sua participação na entrada de cálcio (canais de cálcio) nas células nos músculo liso vascular (Rosenfeld *et al*, 2000; White, 2002).

Com relação à progesterona, os estudos são controversos a respeito do seu papel na produção de ON. Salzman *et al*, demonstrou que a progesterona inibe a expressão do

RNAM da iNOS em macrófagos de ratos (Salzman *et al*, 2000). Miller *et al* também encontrou redução da atividade e produção de ON através da inibição da expressão do RNAm da iNOS em células de macrófagos de ratos após uso de progesterona (Miller *et al*, 1996). Buhimschi em seu estudo com ratos, observou que a produção de ON e GMPc é dependente, além do estado reprodutivo do animal, da dose e do regime utilizado de hormônios esteróides sexuais, onde a administração isolada de estradiol aumenta a produção de ON e a progesterona, isoladamente, diminui o ON e o GMPc. Ambos hormônios administrados ao mesmo tempo, resultam em níveis de ON e GMPc diferentes (Buhimschi *et al*, 2000). Ogando *et al*, verificou que o estradiol e a progesterona juntos são capazes de aumentar a atividade da NOS durante a gestação e que a progesterona aumenta a expressão da eNOS e iNOS, enquanto que o estradiol aumenta somente a expressão da iNOS (Ogando *et al*, 2003).

A Tabela 2 mostra alguns estudos sobre a relação entre estradiol e progesterona com a síntese de ON.

**Tabela 2 – Estudos sobre a relação entre estradiol e progesterona com a síntese de ON**

<b>AUTOR/ANO</b>	<b>RESULTADO DO ESTUDO</b>
<b>Miller <i>et al</i>/1996</b>	progesterona inibe a atividade e síntese de ON em ratos por redução da expressão do RNAm da iNOS.
<b>Du Z <i>et al</i>/1999</b>	progesterona inibe a vasodilatação mediada pelo ON promovida pelo estrogênio, especialmente em altas concentrações.
<b>Khorram <i>et al</i>/1999</b>	presença da eNOS em endométrio humano após histerectomia em 62% casos na fase secretora quando comparada com fase proliferativa e mulheres pós-menopáusicas sem TRH apresentavam redução significativa da eNOS.
<b>Buhimschi <i>et al</i>/2000</b>	aumento de ON em ratas prenhas quando comparadas com animais em outras condições fisiológicas.
<b>Chwalisz e Garfield /2000</b>	efeitos sinérgicos de inibidores da NOS com anti-progestágenos.
<b>Sanyal <i>et al</i> /2000</b>	verificou a presença de diferentes isoformas da NOS em células trofoblásticas; após a administração de doador de ON houve diminuição da produção de progesterona.
<b>Salzman <i>et al</i>/2000</b>	progesterona inibe a expressão do RNAm da iNOS em enterócitos humanos.
<b>Zhang <i>et al</i>/2002</b>	progesterona promove relaxamento vascular através da produção de ON endotelial e é dose-dependente.
<b>Batra <i>et al</i>/2003</b>	tratamento com estrogênio em ratas demonstra inibição da atividade da NOS uterina por retro-alimentação.
<b>Carbajo <i>et al</i>/2003</b>	diminuição dos níveis de estradiol em ratas grávidas tratadas com inibidor da síntese de ON (L-NAME).
<b>Ogando <i>et al</i>/2003</b>	progesterona aumenta a expressão da eNOS e iNOS e estradiol aumenta a expressão da iNOS.
<b>Sartin <i>et al</i>/2003</b>	aumento plasmático de ON após tratamento com estradiol e progesterona.
<b>Shi <i>et al</i>/2003</b>	interação entre anti-progestágenos e inibidores da NOS e da aromatase bloqueando a implantação do embrião no endométrio.

ON = óxido nítrico; NOS = óxido nítrico sintase; iNOS = óxido nítrico sintase induzível; eNOS = óxido nítrico sintase endotelial; TRH = terapia de reposição hormonal.

## 7. Este estudo

A teoria da isquemia placentária para etiologia da pré-eclâmpsia está focada no efeito da hipóxia no tecido trofoblástico durante o 2º trimestre da gestação, portanto há

indícios de que o processo se inicie precocemente, ainda que esta patologia, com frequência, se manifeste no 3º trimestre. Apesar das alterações encontradas nas artérias espiraladas e no aumento da resistência ao fluxo sanguíneo útero-placentar e sistêmico, ocasionando isquemia placentária, modificações precisas que ocorrem no leito placentário ainda necessitam ser estabelecidas nas gestações com pré-eclâmpsia (Wallenburg, 1988; Sorensen *et al*, 1993).

Os hormônios esteróides femininos (estrogênio e progesterona) participam no processo de relaxamento vascular, agindo no endotélio e promovem a liberação de ON, entre outros fatores vaso-relaxantes.

Alguns trabalhos questionam o efeito vasodilatador do estradiol e da progesterona, e sabe-se que os efeitos desses hormônios podem ser diferentes em situações de aumento ou diminuição agudos quando comparados com processos crônicos, promovendo proteção contra algumas doenças e suscetibilidades a outras (White *et al*, 1995; Liao *et al*, 1996).

Tem sido relatado que esses hormônios esteróides assumem níveis decrescentes durante gestações acompanhadas de hipertensão e pré-eclâmpsia. Níveis diminuídos de estrogênio na gravidez foram relatados em 1940, quando esta se associava com diabete, hipertensão, SPE, pós-maturidade, descolamento de placenta, parto de natimorto e morte fetal sem explicação (Bhansali e Eugere, 1992). Por outro lado, Bowyer *et al*, 2003 demonstrou níveis elevados de progesterona em gestantes com pré-eclâmpsia e hipertensão gestacional (Bowyer *et al*, 2003).

A relação entre aumento da pressão arterial e baixos níveis séricos de estrogênio tem sido bem documentada, e pode ser devido à placenta não ter capacidade de sintetizar quantidades normais de hormônios ou então desses hormônios poderem ficar acumulados nas células da placenta. Bhansali e Eugere determinaram as concentrações de estradiol e progesterona na placenta de gestantes normais e de gestantes com SPE, identificando

aumento desses hormônios na placenta de pacientes com SPE quando comparadas com gestantes normais (Bhansali e Eugere, 1992).

Com relação ao ON, os estudos realizados até o presente momento são controversos, alguns identificando aumento, outros diminuição e existem até trabalhos que não mostram diferença nos valores de ON na pré-eclâmpsia (Seligman *et al*, 1994; Lyall *et al*, 1995; Davidge *et al*, 1996; Hata *et al*, 1999; Conrad *et al* 1999; Pathak *et al*, 1999).

O estradiol exerce um efeito vasodilatador, agindo entre outros mecanismos, na estimulação da síntese do ON, conforme já discutido anteriormente. A progesterona tem ação em receptores da musculatura lisa vascular, também promove liberação de prostaciclina; alguns estudos vistos anteriormente questionam a inibição da iNOS pela progesterona, mas o seu mecanismo de ação final é dependente de uma combinação com o estrogênio.

A hipótese do presente estudo é que as concentrações séricas de estradiol e progesterona estejam diminuídas em gestantes com SPE e que a concentração dos hormônios esteróides sexuais possam estar associadas com as variações nos níveis de óxido nítrico sérico.

A presença de níveis diminuídos de estradiol e progesterona poderia servir como marcador para o desenvolvimento de pré-eclâmpsia no terceiro trimestre de gestação e a possibilidade de prever quais pacientes apresentam risco para o desenvolvimento desta patologia é crucial para estudos preventivos e intervencionais, identificando a população de alto risco, de modo a intensificar a assistência médica, permitindo um tratamento adequado e precoce.

## **II - OBJETIVOS**

### **1. Objetivo Geral**

Estudar os níveis séricos de estradiol, progesterona e óxido nítrico em gestantes normais e em gestantes com síndrome de pré-eclâmpsia.

### **2. Objetivos Específicos**

1. Comparar os níveis séricos de estradiol, progesterona e ON de gestantes normais com gestantes com síndrome de pré-eclâmpsia.

2. Relacionar os níveis de estradiol, progesterona e óxido nítrico com os dados demográficos, clínicos, laboratoriais e perinatais nas gestantes com SPE e nas gestantes normais.

3. Avaliar a participação dos níveis séricos de estradiol, progesterona e ON na fisiopatologia da síndrome de pré-eclâmpsia.

## **III – PACIENTES E MÉTODOS**

### **1. Delineamento da pesquisa**

Foi realizado um estudo de caso-controle observacional, no qual foi verificado os níveis de estradiol, progesterona e ON em gestantes nulíparas que receberam assistência no Hospital São Lucas da PUCRS.

### **2. População e amostra**

A amostra constou de pacientes que receberam assistência no Hospital São Lucas da PUCRS no período de junho de 2000 a dezembro de 2001. A seleção foi feita conforme o estado clínico da gestante (gestante normal ou gestante com SPE), através da entrada no Centro Obstétrico ou em consulta pré-natal de rotina no ambulatório de obstetrícia. As gestantes do grupo normal foram escolhidas por semelhança de tipo racial, idade, idade gestacional e paridade às pacientes com SPE.

Todas as pacientes foram devidamente informadas sobre a pesquisa e incluídas somente após a assinatura do Termo de Consentimento Pós-Informado (Anexo 1).

Após a inclusão da gestante no estudo, foi preenchido o protocolo de inclusão (Anexo 2) que consta de dados de identificação, anamnese, história médica pregressa e história familiar, exames físico e laboratoriais e também dados perinatais. Foram coletadas amostras de urina e 10 mL de sangue para dosagens bioquímicas e hormonais.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e pela Comissão Científica do Hospital São Lucas da PUCRS.

### ***2.1 Critérios de inclusão e exclusão de pacientes***

Foram incluídas gestantes nulíparas normais ou com SPE, que estavam no terceiro trimestre de gestação com idade gestacional (IG) comprovada por data da última menstruação confiável ou por ultra-sonografia de primeiro trimestre, que foram atendidas no Ambulatório de Obstetrícia e/ou Centro Obstétrico do Hospital São Lucas da PUCRS e que concordaram em participar do estudo através da assinatura de Termo de Consentimento Pós-Informado. Gestantes que, abandonaram a pesquisa por qualquer motivo ou não completaram todas as informações necessárias à análise dos dados foram excluídas, assim como gestantes normais que desenvolveram hipertensão ou qualquer patologia depois dos exames terem sido coletados. Com relação ao grupo das gestantes com SPE, excluiu-se também as pacientes que desenvolveram alguma patologia ou situação diferente de pré-eclâmpsia que pudesse afetar a produção de ON, estradiol e progesterona, como as doenças inflamatórias, infecções, atopias, tireopatias e hepatopatias.

Critérios de exclusão na seleção inicial foram mulheres com gestação atual múltipla, anormalidades cromossômicas conhecidas e fetos com malformação, isoimunização, história de diabetes melito, hepatopatia, tireoideopatia, nefropatia.

### 3. Definições para o trabalho

**Gestação:** período compreendido entre a concepção e a expulsão do produto desta concepção, denominada de parto. Na mulher este período é datado de aproximadamente 38 semanas a partir da concepção, ou 40 semanas a partir do primeiro dia da última menstruação.

**Gestante normal:** mulheres com 20 semanas ou mais de gestação, normotensas, sem história ou tratamento prévio à gestação de hipertensão arterial, diabetes melito, outras endocrinopatias ou hepatopatias.

**Terceiro trimestre da gestação:** gestação com 28 semanas incompletas ou mais de evolução, comprovadas por data da última menstruação confiável ou por ultra-sonografia precoce, realizada durante o primeiro trimestre.

**Nulípara:** mulher que nunca completou uma gravidez até o estágio da viabilidade (após a vigésima semana ou feto com mais de 500 gramas). Ela pode ou não ter abortado anteriormente.

**Múltipara:** mulher que completou mais de uma gestação até o estágio da viabilidade (após a vigésima semana ou feto com mais de 500 gramas).

**Pressão arterial sistólica (PAS):** é a pressão que se obtém na última parte da sístole e é determinada fundamentalmente pelo volume sistólico ventricular esquerdo, pela velocidade de ejeção e pela distensibilidade das paredes da aorta. É medida no aparecimento dos sons de Korotkoff (Fase I).

**Pressão arterial diastólica (PAD):** é a pressão determinada pela pressão alcançada durante a sístole, pela velocidade do fluxo através das resistências periféricas e pela duração da diástole. É estabelecida principalmente pela resistência periférica total, pela

freqüência cardíaca e reflete a carga constante que as paredes vasculares suportam ao longo do ciclo cardíaco. É medida no desaparecimento dos sons de Koroktoff (Fase V).

**Pressão arterial média (PAM):** é o termo médio encontrado no ciclo de uma curva de pressão arterial; este termo é levemente inferior à média aritmética das pressões sistólica e diastólica  $(PAS + 2 \times PAD) / 3$ ).

**Hipertensão arterial sistêmica (HAS):** pressão arterial sistólica igual ou acima de 140mmHg, e pressão diastólica igual ou acima de 90mmHg.

**Hipertensão crônica:** quando a hipertensão arterial sistêmica está presente antes da gravidez ou da vigésima semana de gestação, ou é diagnosticada pela primeira vez na gravidez e não desaparece até 12 semanas após o parto.

**Proteinúria patológica:** excreção urinária de proteína igual ou superior a 0,3g/24h ou quando a relação proteína e creatinina urinárias for igual ou superior a 0,3 em amostra de urina.

**Pré-eclâmpsia (PE):** síndrome específica da gestação que ocorre após a vigésima semana de gestação e se manifesta por HAS e proteinúria patológica, acompanhadas ou não de edema.

**Pré-eclâmpsia sobreposta (PES):** mulheres com hipertensão e sem proteinúria no início gestação que passam a apresentar proteinúria; e/ou mulheres com hipertensão e proteinúria antes de 20 semanas gestação que apresentem súbito aumento na proteinúria, súbito aumento da pressão sangüínea previamente bem controlada, trombocitopenia ou aumento da alanina aminotransferase ou aspartato aminotransferase para níveis anormais. Neste grupo também incluem-se as mulheres com pré-eclâmpsia que persistem com aumento dos níveis tensionais ou com proteinúria após 8 a 12 semanas do parto.

**Síndrome de pré-eclâmpsia (SPE):** quando uma gestante apresentar pré-eclâmpsia ou pré-eclâmpsia sobreposta.

**Óxido nítrico (ON):** molécula gasosa constituída por um átomo de nitrogênio e outro de oxigênio que é liberada pelo endotélio como substância vasorrelaxante.

**Nitrito (NO<sub>2</sub>):** metabólito sérico; produto da oxidação do ON.

**Nitrato (NO<sub>3</sub>):** metabólito sérico; produto da oxidação de nitritos.

**NOx:** termo utilizado para referir a concentração dos metabólitos do ON, nitritos e nitratos.

**Estradiol:** hormônio esteróide, produto final do processo de esteroidogênese, produzido também pela placenta que pode estar envolvido na regulação vascular.

**Progesterona:** hormônio esteróide que surge em primeiro lugar no processo geral de esteroidogênese, e participa da regulação vascular.

## 4. Variáveis Analisadas

### 4.1 Dados demográficos e clínicos

A **idade** foi analisada em anos; a **raça**, em branca e não-branca; a **paridade**, em nulípara e não-nulípara; a **idade gestacional (IG) da coleta**, em semanas, sendo definida pela data da última menstruação (DUM) confiável ou ultra-sonografia de primeiro trimestre quando disponível; a **história médica pregressa de patologias** e **história familiar de hipertensão crônica** presente ou ausente.

### 4.2 Exame físico

**Medida da pressão arterial** - a verificação da PA foi realizada em qualquer dos membros superiores com a paciente sentada, após 20 minutos de repouso, utilizando esfigmomanômetro com coluna de mercúrio (Higgins e Swiet, 2000). A PAS foi medida no

aparecimento dos sons de Korotkoff (fase I); a fase V de Korotkoff foi utilizada para definir a PAD; a unidade utilizada foi mmHg .

### **4.3 Exames laboratoriais**

O **hematócrito (HCT)** (normal 38-45%) e a **hemoglobina (HB)** (normal 12-16g/dL) foram determinados pelo contador Coulter STKS; a **creatinina sérica** (normal 0,5-1,2mg/dL), pelo método colorimétrico; o **ácido úrico** (normal 2-6,6mg/dL) e a **glicemia de jejum** (normal 70-110mg/dL), pelo método enzimático-colorimétrico. Os exames foram todos realizados no laboratório do Hospital São Lucas da PUCRS, através da coleta de amostras de sangue venoso periférico.

**Exame qualitativo de urina (EQU):** realizado exame físico-químico e do sedimento urinário.

**Proteinúria (mg/24h):** foi estimada através da coleta de urina de 24 horas das gestantes que apresentaram aumento da PA, sendo considerados, para diagnóstico de SPE, níveis acima de 300mg/24h. As proteínas foram determinadas pelo método turbidimétrico, com leitura espectrofotométrica. Alternativamente, empregou-se a avaliação em amostra pela relação da proteinúria com a creatininúria. Essa relação foi utilizada para estimar a proteinúria de 24horas, quando esta não era possível de ser coletada; foi considerada patológica, quando a relação foi maior ou igual a 0,3. Os exames qualitativo de urina, proteinúria de 24 horas, proteinúria e creatininúria foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital São Lucas da PUCRS.

**Dosagem de estradiol :** as amostras de soro foram estocadas a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Ao término da coleção, o estradiol foi dosado de uma só vez no Laboratório de Nefrologia do Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) da PUCRS por *kit* de radioimunoensaio de 3<sup>a</sup> geração, comercialmente disponível (DPC MedLab), fase sólida, com anticorpos monoclonais específicos para estradiol e sensibilidade analítica para 1 pg/mL.

A técnica foi desenvolvida conforme recomendação do fornecedor; as dosagens foram feitas em duplicata. A contagem da radioatividade foi feita pelo contador Gama C12 da *Diagnostic Products Corporation*. As concentrações utilizadas na confecção da curva de calibração foram 0, 22, 95, 332, 1102 e 3600 pg/mL conforme os padrões fornecidos pelo *kit*. No início foram dosadas 2 gestantes (1 normal e 1 com PE) escolhidas ao acaso, para verificar a adequada diluição a ser processada no restante da amostra. Como resultado, a diluição empregada neste estudo foi de 1:30.

Os resultados foram convertidos para ng/mL.

**Dosagem de Progesterona :** da mesma forma que as dosagens de estradiol, procedeu-se as dosagens de progesterona. Aqui também foi utilizado um *kit* comercialmente disponível com as mesmas características descritas para o *kit* de estradiol.

Os padrões da curva de calibração foram 0; 0,4; 1,7; 5,0 14,3 e 40 ng/mL e a diluição do soro das gestantes também foi de 1:30. A sensibilidade analítica deste *kit* é de 0,2 ng/mL e os resultados foram fornecidos em ng/mL.

**Dosagem de ON:** As dosagens de nitritos e nitratos foram realizadas pelo *Nitric Oxide Analyzer 280* da Sievers (NOA) no Laboratório de Nefrologia do IPB/PUCRS. Este método reduz nitritos ( $\text{NO}_2$ ) usando iodeto e ácido acético, e nitratos ( $\text{NO}_3$ ) e nitritos

através da reação com vanádio e ácido clorídrico a 90° C. O gás ON escapa destas reações, resultando num pico gráfico de ON que é detectado por quimioluminescência do NOA.

O resultado fornecido pelo programa do NOA identifica concentração de óxido nítrico plasmático a partir da calibração do aparelho por soluções de nitritos e nitratos.

A concentração sérica de nitritos e nitratos foi calculada pela devida comparação com as soluções padrões dos mesmos. O coeficiente médio de variação entre as duplicatas das amostras foi de 8,2% para os nitritos e 3,2 % para os nitratos.

Os resultados foram fornecidos em  $\mu\text{M}$ .

#### ***4.4 Evolução materno-fetal***

Foram avaliados a idade gestacional do parto em semanas, definida pela Data da Última Menstruação (DUM) confiável e/ou por ultra-sonografia de primeiro trimestre (idade gestacional obstétrica), idade gestacional pediátrica em semanas, conforme o índice de Capurro, peso da placenta (gramas), sexo (feminino/masculino), peso do feto (gramas) e o escore de Apgar no 1° e 5° minutos após o nascimento (0 a 10). O recém-nascido (RN) foi classificado, através da relação de seu peso com a IG no nascimento, como segue: adequado para a idade gestacional (AIG), pequeno para a idade gestacional (PIG) ou grande para a idade gestacional (GIG), segundo o gráfico de Ballard (Ballard *et al*, 1991).

## 5. Análise Estatística

A assessoria bioestatística calculou o tamanho da amostra de 30 pacientes em cada grupo. Foi empregado o programa EPI-INFO para calcular o tamanho da amostra necessário, considerando a diferença nos níveis de estradiol, progesterona e NOx entre as gestantes normais e com síndrome de pré-eclâmpsia, incluindo seus devidos desvios-padrão para um  $\alpha = 0,05$  e poder de 90%.

As variáveis contínuas foram descritas por média e desvio-padrão. Variáveis categóricas foram expressas em percentuais.

O teste *t* de Student para amostras independentes (dados paramétricos) foi utilizado nas comparações entre dados quantitativos dos diferentes grupos estudados. O teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) foi empregado na comparação das variáveis categóricas, como raça, história familiar de hipertensão arterial, história pregressa de infecção urinária e classificação da relação peso do recém-nascido e idade gestacional.

Para verificar associações entre os níveis de estradiol e progesterona com as variáveis quantitativas, utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson, usando a seguinte classificação:

r entre **0,0 e 0,1** correlação trivial; r entre **0,1 e 0,3** correlação baixa; r entre **0,3 e 0,5**, correlação moderada; r entre **0,5 e 0,7**, correlação alta; r entre 0,7 e 0,9, correlação muito alta e r entre **0,9 e 1,0**, quase perfeita (Hopkins, 2002).

O nível de significância adotado no estudo foi:  $\alpha = 0,05$ .

O pacote estatístico, empregado na análise computadorizada dos dados, foi o SPSS (do inglês: Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc, Chicago) versão 10.0 para Windows.

## **6. Considerações sobre a forma de dissertação**

Como não existe uma recomendação formal do Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica e Ciências da Saúde da PUCRS sobre o formato da dissertação, este trabalho utilizou as recomendações de Spector (Spector, 2002).

As referências bibliográficas serão apresentadas no formato ABNT e as citações pelo sistema autor-data.

## **IV - RESULTADOS**

### **1. Características demográficas, clínicas e perinatais**

Foram incluídas no estudo 60 mulheres gestantes, assim divididas:

Grupo SPE – gestantes com síndrome de pré-eclâmpsia (n=30);

Grupo GN – gestantes com evolução normal (n=30).

A Tabela 3 apresenta as características demográficas, clínicas e laboratoriais das gestantes em estudo. Os valores de PAS, PAD, PAM, creatinina e ácido úrico apresentaram diferença significativa entre os dois grupos. Não houve diferença quanto à idade, raça, glicemia de jejum, idade gestacional da coleta, hematócrito, hemoglobina, peso, história prévia de infecção do trato urinário (ITU) e história familiar de HAS.

**Tabela 3 – Características demográficas, clínicas e laboratoriais das gestantes com SPE e das gestantes normais**

Variável (unidade)	SPE (n=30)	GN (n=30)	p
Idade (anos)*	21 ± 5,8	24 ± 4,5	0,07**
Raça branca (n/%)	20 / 66,7	18 / 60	0,07***
Glicemia jj (mg/dL)	77,4 ± 14,4	74,2 ± 8,0	0,43**
IG coleta (sem)*	35 ± 3,1	36 ± 3,4	0,55**
PAS (mmHg)*	160 ± 20,0	109 ± 20,4	<0,001**
PAD (mmHg)*	105 ± 9,7	70 ± 7,2	<0,001**
PAM (mmHg)*	122,9 ± 11,9	83,2 ± 9,3	<0,001**
Hematócrito (%)*	35,2 ± 3,1	36 ± 3,7	0,37**
Hemoglobina (g/dL)*	11,8 ± 1,1	11,9 ± 1,3	0,58**
Creatinina (mg/dL)*	0,65 ± 0,15	0,57 ± 0,07	0,025**
Acido úrico (mg/dL)*	6,0 ± 1,5	4,3 ± 1,2	<0,001**
Peso (kg)	73,6 ± 12,1	71,5 ± 10,3	0,478**
História Prévia ITU (n/%)	14 / 46,7	16 / 53,3	0,796***
História Fam. de HAS (n/%)	19 / 65,5	15 / 50	0,435***

\* média ± desvio padrão; \*\* teste *t* Student; \*\*\* Teste qui-quadrado; n/% = frequência absoluta e percentual; SPE = gestantes com síndrome de pré-eclâmpsia; GN = gestantes normais; IG = idade gestacional na coleta (avaliação), em semanas; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média; ITU = infecção do trato urinário; HAS = hipertensão arterial sistêmica.

Com relação à proteinúria, a média e o desvio padrão da proteinúria de 24 horas das pacientes com SPE foi de 2707±2312mg/24h, com mediana de 1933,0mg/24h. Nas gestantes normais, o controle de proteínas foi verificado no EQU, sendo que nenhuma das gestantes normais apresentava proteinúria.

A Tabela 4 apresenta os dados perinatais dos dois grupos estudados. Houve diferença significativa em relação ao peso da placenta, peso do recém-nascido e classificação. Não houve diferença significativa em relação ao Apgar no 1º e 5º minuto, idade gestacional pediátrica e sexo.

**Tabela 4 – Dados perinatais das gestantes com SPE e das gestantes normais**

Variável (unidade)	SPE (n=30)	GN (n=30)	p
Peso RN (g)*	2329,2 ± 704,7	3266,8 ± 534,9	<0,001**
Apgar RN 1º minuto*	8±1,9	8 ±1,4	0,408**
Apgar RN 5º minuto*	9 ± 1	9 ± 0,6	0,775**
Peso da placenta (g)*	495,9 ± 135,1	626,7 ± 121,5	<0,001**
IG pediátrica no parto (sem)*	37,0±3,7	38,7±1,2	0,087**
Sexo RN (%)	Fem	66,7	0,429***
	Mas	33,3	
Classificação do RN (%)	<b>AIG</b>	93,3	0,009***
	<b>GIG</b>	0	
	<b>PIG</b>	6,6	

\* média ± desvio padrão; \*\* teste *t* de Student; \*\*\* Teste qui-quadrado; % = percentual; SPE = gestantes com síndrome de pré-eclâmpsia; GN = gestantes normais; RN = Recém-nascido; Fem = feminino; Mas = masculino; AIG = Adequado para a idade gestacional; GIG = Grande para a idade gestacional; PIG = Pequeno para a idade gestacional; IG = idade gestacional.

## 2. Dosagem de Estradiol, Progesterona e Óxido Nítrico

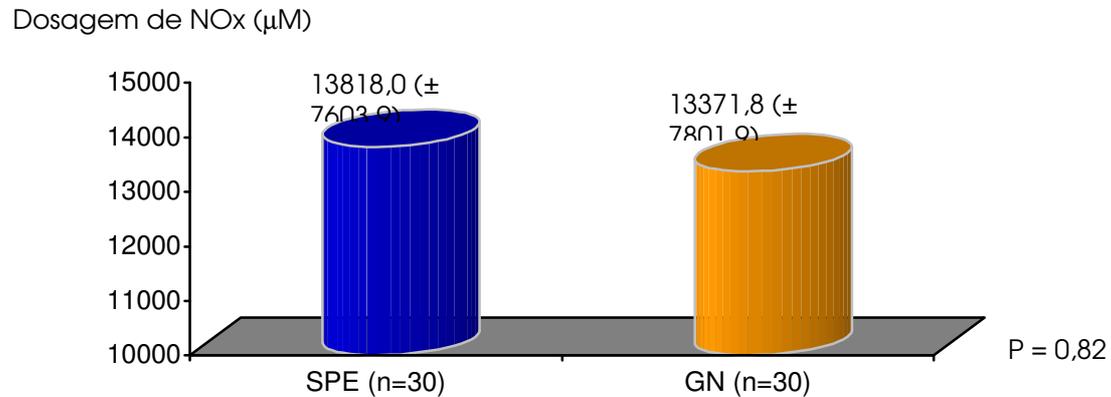
As concentrações séricas de estradiol e progesterona nos grupos SPE e GN estão apresentadas na Tabela 5. Não houve diferença significativa nos valores de estradiol e progesterona entre as gestantes normais e as gestantes com SPE.

**Tabela 5 – Dosagem de estradiol e progesterona nas gestantes estudadas com SPE e nas gestantes normais**

Variável (unidade)	SPE (n=30)*	GN (n=30)*	p**
Estradiol (ng/mL)	30,4 ± 19,0	31,6 ± 16,6	0,81
Progesterona (ng/mL)	574,1 ± 227,0	640,9 ± 358,1	0,39

\* média ± desvio padrão; \*\* teste *t* de Student; SPE = gestantes com síndrome de pré-eclâmpsia; GN = gestantes normais.

Não houve diferença estatisticamente significativa para os níveis de NOx das gestantes dos dois grupos (Figura 5).



**Figura 5 – Dosagem de óxido nítrico (NOx) nas gestantes estudadas.**

### 3. Correlações entre as dosagens de Estradiol, Progesterona e Óxido Nítrico e demais variáveis

#### 3.1 Relações com aspectos clínicos e laboratoriais

As relações entre estradiol, progesterona e NOx com alguns aspectos clínicos e laboratoriais das pacientes estudadas, avaliadas por correlação de Pearson, estão apresentadas na Tabela 6 (n=60). As variáveis PAS, PAD e PAM não apresentaram correlação significativa com os níveis séricos de estradiol, progesterona e óxido nítrico. Houve correlação moderada negativa da idade com o estradiol e positiva da idade gestacional da coleta com o estradiol e progesterona. Correlação alta foi detectada entre estradiol e progesterona nos dois grupos conjuntamente.

O óxido nítrico apresentou baixa correlação com a progesterona.

**Tabela 6 – Correlações entre as características demográficas, clínicas e laboratoriais das gestantes com as dosagens séricas de estradiol, progesterona e ON**

Variável (unidade)	Estradiol (ng/mL)	Progesterona (ng/mL)	NOx (µM)
Idade (anos)	<b>r = -0,344</b> <b>p = 0,007</b>	r = -0,204 p = 0,119	r = 0,093 p = 0,478
IG coleta (sem)	<b>r = 0,418</b> <b>p = 0,001</b>	<b>r = 0,396</b> <b>p = 0,002</b>	r = 0,224 p = 0,086
PAS (mm Hg)	r = 0,016 p = 0,901	r = -0,091 p = 0,409	r = 0,033 p = 0,689
PAD (mm Hg)	r = -0,009 p = 0,947	r = -0,136 p = 0,301	r = 0,011 p = 0,935
PAM (mm HG)	r = 0,003 p = 0,982	r = -0,120 p = 0,361	r = 0,031 p = 0,812
Estradiol (ng/mL)		<b>r = 0,556</b> <b>p &lt; 0,001</b>	r = 0,201 p = 0,124
Progesterona (ng/mL)			<b>r = 0,272</b> <b>p = 0,035</b>

r: coeficiente de correlação de Pearson; p: significância pelo teste *t* de Student; IG = idade gestacional no momento da coleta, em semanas; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média.

### 3.2 Relações entre hormônios, ON e dados perinatais

As dosagens de estradiol, progesterona e ON foram relacionadas com os seguintes dados perinatais: peso do recém-nascido e da placenta e idade gestacional pediátrica (Tabela 7) (n=60). Houve correlação positiva moderada entre o estradiol com o peso do recém-nascido e peso da placenta, assim como com a progesterona e peso do concepto. Correlação alta foi verificada entre a progesterona e o peso da placenta.

**Tabela 7 – Correlações entre dados perinatais com dosagens séricas de estradiol, progesterona e ON**

Variável (unidade)	Estradiol (ng/mL)	Progesterona (ng/mL)	NOx (µM)
Peso RN (g)	<b>r =0,418</b> <b>p = 0,001</b>	<b>r = 0,467</b> <b>p &lt;0,001</b>	r =0,157 p =0,246
Peso da placenta (g)	<b>r =0,483</b> <b>p &lt;0,001</b>	<b>r =0,547</b> <b>p &lt;0,001</b>	r =0,155 p =0,260
IG pediátrica (sem)	r =0,317 p =0,073	r =0,273 p =0,124	r =0,278 p =0,118

IG = idade gestacional pediátrica em semanas; RN = recém-nascido.

Houve correlação alta positiva entre a idade gestacional pediátrica e o peso da placenta ( $r=0,664$ ;  $p<0,001$ ), assim como entre o peso do recém-nascido com a idade gestacional da coleta ( $r=0,612$ ;  $p<0,001$ ). A correlação entre idade gestacional da coleta e peso da placenta foi moderada ( $r=0,463$ ,  $p<0,001$ ). Correlação alta e negativa foi detectada entre PAS, PAD e PAM e o peso do concepto ( $r=-0,641$ ,  $p<0,001$ ;  $r=-0,594$ ,  $p<0,001$  e  $r=-0,630$ ,  $p<0,001$  respectivamente) e da placenta ( $r=-0,609$ ,  $p<0,001$ ;  $r=-0,513$ ,  $p<0,001$  e  $r=-0,566$ ,  $p<0,001$  respectivamente). Correlação de magnitude muito alta foi obtida entre o peso do recém-nascido e peso da placenta ( $r=0,813$ ,  $p<0,001$ ) e também com a idade gestacional pediátrica ( $r=0,751$ ;  $p<0,001$ ).

Com relação à mortalidade materna e fetal, esta foi ausente no presente estudo. Nenhuma paciente evoluiu para eclâmpsia ou outras complicações decorrentes da patologia em estudo.

## V - DISCUSSÃO

As alterações das funções neuroendócrinas e metabólicas durante a gestação representam o mais notável fenômeno adaptativo dentro do sistema biológico. A unidade feto-placenta-decídua produz quantidades extraordinárias de hormônios esteróides e protéicos, neuropeptídeos, fatores de crescimento e citocinas (Yen, 1991), os quais apresentam um importante papel na regulação da fisiologia materno-fetal como controle de ancoragem da placenta, crescimento e maturação fetal, regulação do fluxo sanguíneo uterino e início do trabalho de parto. No entanto, a exata função que eles exercem na manutenção da gestação e como interagem com o útero materno, ainda resta saber (Reis *et al*, 2001).

A gravidez compreende uma série de modificações endócrinas importantes e complexas, tanto no compartimento materno quanto nos compartimentos placentário e fetal, todas inter-relacionadas entre si. A placenta elabora uma série de hormônios esteróides e protéicos propiciando um ambiente adequado para o crescimento e desenvolvimento do feto (Rozas, 2000).

Durante os nove meses de gestação a mulher produz quantidades de estrógeno superiores a que uma mulher produziria durante mais de cem anos de vida em ciclos ovulatórios; há um estado hiperestrogênico ao termo. Com relação à progesterona ocorre aumento semelhante ao estrogênio, porém de uma forma um pouco menos acentuada (Rezende e Linhares, 1998).

O surgimento de certas condições patológicas durante a gestação pode modificar o equilíbrio existente entre mãe-feto-placenta, promovendo alterações em diversos sistemas e órgãos maternos, entre eles a produção hormonal placentária (Miller *et al*, 2003).

A pré-eclâmpsia encontra-se entre uma das patologias com maior morbimortalidade materno-fetal no Brasil e em países desenvolvidos até os dias de hoje. Sua etiologia persiste ignorada, embora saiba-se que o envolvimento da placenta e a presença de dano endotelial são certos nesta condição (Roberts e Cooper, 2001).

Estudos mostram que a produção hormonal encontra-se alterada na pré-eclâmpsia, bem como a produção de fatores moduladores do tônus vascular. O papel da via L-arginina-ON está cada vez mais estudado e controverso em situações hipertensivas e na gestação (White *et al*, 1995; Acromite *et al*, 1999; Miller *et al*, 2003)

Este estudo dá continuidade à investigação científica sobre modificações fisiológicas presentes na gestação e suas complicações, como estados hipertensivos, que vem sendo desenvolvida no Laboratório de Nefrologia do Instituto de Pesquisas Biomédicas da PUCRS, juntamente com o Serviço de Obstetrícia do HSL-PUCRS. Estudo anterior sobre alterações hormonais identificou diminuição dos níveis de lactogênio placentário humano (hPL) em gestantes com SPE e não encontrou diferenças nos valores de gonadotrofina coriônica humana (hCG) entre gestantes normais e com SPE (Zanella, 2002).

No presente estudo foram incluídas apenas gestantes nulíparas baseado na hipótese de que a pré-eclâmpsia na primeira gestação e em gestações posteriores possa representar duas condições distintas, ou ainda que, nas nulíparas a pré-eclâmpsia reflète uma patologia placentária primária, diferente do que pode ocorrer com múltiparas, nas quais esta patologia pode estar associada a outros tipos de alterações (Obiekwe *et al*, 1984).

Analisando as características demográficas e clínicas das gestantes estudadas, não encontrou-se diferença significativa entre gestantes normais e gestantes com SPE quanto à idade, raça, glicemia de jejum, história prévia de ITU, história familiar de HAS, IG e peso. Alguns destes resultados eram esperados, pois faziam parte dos critérios de inclusão das pacientes visando o emparelhamento da amostra.

A pressão arterial (PAS, PAD, PAM) foi significativamente maior no grupo com SPE, fato que deveria necessariamente ocorrer, pois esta variável foi utilizada como critério de separação dos grupos.

Observou-se uma frequência maior de história familiar de HAS no grupo das gestantes com SPE (65,5%), quando comparado com o grupo de gestantes normais (50%). Sabe-se que há tendência familiar especialmente se a síndrome hipertensiva for severa (Dekker e Sibai, 1998).

Para a maioria das pacientes foi utilizado o índice proteinúria/creatininúria de amostra, como método de determinação da proteinúria patológica. Optou-se por este método visando eliminar a possibilidade de sub ou superestimar este valor, pois diversas variáveis podem interferir na coleta de urina de 24 horas, tais como: coleta incompleta ou em excesso e interrupção da gestação antes de completar a coleta de 24 horas.

Na análise dos exames laboratoriais, verificaram-se valores de hematócrito e hemoglobina inferiores aos encontrados na população normal adulta, mas os mesmos não diferiram significativamente entre os dois grupos, ao contrário do esperado, visto que na pré-eclâmpsia ocorre transferência de líquido do intra para o extra-vascular, produzindo hemoconcentração sangüínea (Brown, 1995). Segundo o Colégio Americano de Ginecologia e Obstetrícia, a hemoconcentração pode ser um indicador da severidade da doença (Gifford *et al*, 2000), e níveis mais elevados de hemoglobina foram associados com patologia fetal (Sagen *et al*, 1984). Contraditoriamente, Hsu e colaboradores verificaram

que os níveis de hematócrito de gestantes normais e com pré-eclâmpsia severa foram respectivamente 36,1% e 36,2% (Hsu *et al*, 1994), semelhante ao presente estudo. Os valores mais baixos de ambos os grupos de gestantes podem ser explicados pelas adaptações fisiológicas que ocorrem na gestante, na qual o volume plasmático e a massa de eritrócitos se elevam, mas o aumento do primeiro é maior, o que produz a hemodiluição (Rezende e Coslovsky, 1998). A ausência de hemoconcentração sugere que nossas pacientes não apresentavam pré-eclâmpsia severa.

O ácido úrico e a creatinina apresentaram-se significativamente mais elevados nas gestantes com SPE, a qual está associada à alteração do fluxo sanguíneo renal e da filtração glomerular (Gifford *et al*, 2000; Granger, 2001a; Grunewald, 1997), contudo as modificações detectadas não têm relevância clínica.

Em relação aos dados perinatais, o peso dos recém-nascidos foi significativamente menor no grupo SPE e a média dos pesos das placentas no parto também foi menor nas gestantes com SPE do que nas gestantes normais, 495,9g e 626,7g, respectivamente. No entanto a comparação dos pesos das placentas entre os grupos, para avaliar o grau de isquemia placentária, não pode ser feita pois a idade gestacional no parto foi menor nas gestantes com SPE. Na análise das correlações, as pacientes que tiveram níveis tensionais mais elevados apresentaram recém-nascidos com pesos inferiores àquelas que tinham níveis tensionais normais. A idade gestacional pediátrica foi menor no grupo SPE, mas não apresentou significância estatística.

No grupo das gestantes com SPE 2 dos 30 recém-nascidos foram FIG, enquanto que nas gestantes normais não houve nenhum recém-nascido FIG. Os 3 recém-nascidos GIG do estudo estavam no grupo das gestantes normais. A menor idade gestacional no parto e peso dos recém-nascidos ocorreram provavelmente devido à gravidade da pré-eclâmpsia e sua conseqüente necessidade de interrupção mais precoce, confirmando que o risco

neonatal de prematuridade é aumentado nessa patologia (Gifford *et al*, 2000). O sexo e o índice de Apgar no primeiro e quinto minutos dos recém-nascidos não foram estatisticamente diferentes entre os grupos.

James, 2002 analisando 22 estudos a respeito de sexo dos recém-nascidos e pré-eclâmpsia, concluiu que altas concentrações de hormônios ovarianos (androgênios e estrogênios) no momento da concepção podem influenciar no sexo do RN , aumentando o número de fetos masculinos e predispor ao desenvolvimento de pré-eclâmpsia (James, 2002).

Nas correlações com os níveis hormonais, encontrou-se associação entre estradiol e progesterona com o peso do recém-nascido; como o peso da placenta apresentou correlação muito alta com o peso do recém-nascido, isso sugere que os níveis séricos de estradiol e progesterona tiveram relação com a produção placentária dos mesmos. A progesterona apresentou correlação maior que o estradiol com o peso da placenta, embora estudos mostrem que mesmo gestações com fetos com crescimento intra-uterino restrito (hipoxemia e insuficiência placentária) e óbito intra-uterino, não apresentam alterações nos níveis séricos de progesterona, indicando que este hormônio não é um bom indicador de função placentária (Dawood, 1976; Speroff, 1995).

O presente estudo mostrou comportamento semelhante entre as dosagens de estradiol, progesterona e óxido nítrico: não foi encontrada diferença significativa nestas dosagens entre os dois grupos de gestantes analisadas. A progesterona apresentou correlação fraca com o óxido nítrico. Entre o óxido nítrico e o estradiol, nenhuma correlação foi detectada.

Cabe salientar que nesse estudo não houve controle prévio da dieta das pacientes, houve o cuidado de não administrar sulfato de magnésio antes da coleta para as dosagens laboratoriais (o sulfato de magnésio diminui o cálcio circulante, o que reduz a ação da

enzima eNOS, reduzindo a produção de ON) e não separou-se as gestantes com SPE por grupos conforme a gravidade clínica de cada paciente. As patologias que pudessem alterar a produção de ON, estradiol e progesterona foram excluídas nos dois grupos de pacientes.

Os valores de óxido nítrico no presente estudo estão de acordo com os dados de Conrad *et al*, Lyall *et al* (1995), Davidge *et al* (1996) e Hata *et al* (1999), que não encontraram diferença significativa entre gestantes com pré-eclâmpsia quando comparadas com gestantes normais. No seu trabalho, Conrad constatou que o GMPc aumenta no primeiro trimestre da gestação, quando a circulação materna está vasodilatada. Em contraste, a produção de NOx neste mesmo período não se alterou. Outro estudo no Laboratório de Nefrologia encontrou níveis de óxido nítrico discretamente mais elevados em gestantes nulíparas com SPE (Acauan Filho, 2002).

Relativamente aos valores de desvio-padrão do ON mostrados na Figura 5, a falta de jejum (Nobunaga *et al*, 1996; Baylis e Vallance, 1998; Ranta *et al*, 1999) e a falta de especificação da severidade da pré-eclâmpsia podem ter contribuído para um maior desvio-padrão nas nossas pacientes (Pathak *et al*, 1999; Shaamash *et al*, 2000).

Os valores de estradiol foram semelhantes nas gestantes com SPE e nas gestantes normais. Miller *et al* (2003) estudando marcadores androgênicos em nulíparas antes do parto, concluiu que a testosterona, o estradiol, o sulfato de dehidroepiandrosterona (SHDEA) e a globulina carreadora de hormônios sexuais (SHBG) não têm associação com pré-eclâmpsia nestas pacientes; a idade das pacientes e a IG foi semelhante entre os grupos, como no nosso estudo. Ficicioglu e Kutlu (2003) tentando identificar fatores de risco para o desenvolvimento de pré-eclâmpsia estudaram testosterona, estriol livre, SHBG e SDHEA em 90 pacientes com pré-eclâmpsia severa, 10 pacientes com pré-eclâmpsia leve e 50 gestantes normotensas; não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos

com relação aos valores de testosterona e estriol livre. Eles concluíram que os androgênios não têm papel significativo na patogênese da pré-eclâmpsia (Ficicioglu e Kutlu, 2003).

Oestreicher e colaboradores estudaram gestações normais e gestações complicadas por pré-eclâmpsia e por crescimento intra-uterino restrito, com o objetivo de avaliar possíveis variações nos níveis hormonais ocasionadas pelo ritmo circadiano. Todas as gestantes estavam na segunda metade da gestação. Os valores de estradiol, progesterona, prolactina, estriol e hPL foram semelhantes entre todos os grupos (Oestreicher *et al*, 1985).

Diferente dos resultados encontrados neste trabalho, Zamudio *et al* (1994) observaram que em altas altitudes, ocorre diminuição de estradiol e aumento de progesterona, onde também é mais comum encontrar gestantes com crescimento intra-uterino restrito e pré-eclâmpsia. A hipótese deles é a de que nas situações onde ocorre diminuição da pressão de oxigênio ocorre diminuição da atividade da aromatase placentária com conseqüente queda na produção estrogênica. O motivo do aumento da progesterona é desconhecido. Foram dosados progesterona, estradiol e estriol em 18 gestantes em baixas altitudes (1600m) e 40 gestantes em altas altitudes (3100) com 20, 30 e 36 semanas de gestação. Verificou-se queda nos níveis de estradiol e estriol com 36 semanas em gestantes que desenvolveram pré-eclâmpsia em altitudes de 3100m e aumento da progesterona nestas mesmas pacientes. A relação progesterona/estradiol (P/E) foi maior neste grupo de pacientes. Possivelmente o aumento de progesterona relativo à concentração de estradiol contribua para o desenvolvimento de pré-eclâmpsia em altas altitudes. Os valores de estradiol foram  $1,8 \pm 0,2$  ng/mL e a progesterona foi  $418 \pm 63$  ng/mL nas pacientes com pré-eclâmpsia. Cabe salientar que, 20% das gestantes que moravam em altitudes de 3100m desenvolveram pré-eclâmpsia neste estudo. No nosso estudo a relação P/E foi semelhante nos dois grupos de pacientes.

Outro estudo que encontrou níveis aumentados de progesterona em gestantes com pré-eclâmpsia e hipertensão gestacional foi Bowyer *et al* (2003). Eles estudaram também gestantes no terceiro trimestre de gestação e o objetivo foi avaliar a reatividade vascular com a infusão de angiotensina II, nitroprussiato de sódio, acetilcolina e L-NAME, descrevendo o perfil hormonal das pacientes. Tamai *et al* (1984) estudaram o papel dos hormônios esteróides sexuais na refratariedade relativa da angiotensina II na gestação. Na gestação normal ocorre refratariedade ao efeito pressor da angiotensina II e na pré-eclâmpsia esta refratariedade é perdida muito tempo antes do surgimento da hipertensão. Com a infusão *in vitro* de 17- $\beta$ -estradiol a resposta pressora foi suprimida, mas o mesmo não ocorreu com a infusão de progesterona (Tamai *et al*, 1984; Bowyer *et al*, 2003).

Pode-se observar que, em geral, nos trabalhos vistos, as dosagens hormonais foram realizadas no último trimestre de gestação, devido à estabilização da curva hormonal, embora continue ocorrendo um aumento discreto e progressivo dos níveis séricos de estradiol e progesterona até o termo (Figuras 2 e 3). No nosso estudo, houve correlação entre a idade gestacional e os níveis hormonais, onde a primeira variou, em média, entre 32 a 39 semanas, permitindo esta pequena variação. Também encontrou-se correlação entre o estradiol e a progesterona, conforme o esperado.

Todos os trabalhos descritos utilizaram o método de radioimunoensaio para as dosagens hormonais. Entretanto, alguns pesquisadores preferiram dosar estriol ao invés de estradiol, ou até mesmo, ambos os hormônios. Como a curva hormonal na gestação é similar entre o estriol e o estradiol, a representação do perfil estrogênico pode ser feita por qualquer um dos dois hormônios (Speroff *et al*, 1995).

Pode-se observar que muitos trabalhos investigam também a participação dos androgênios no desenvolvimento da pré-eclâmpsia. Acromite *et al* (1999) foram os

primeiros autores a demonstrarem relação entre pré-eclâmpsia e aumento de testosterona, mas os níveis de SDHEA, SHBG e estradiol não mostraram diferença significativa entre gestantes normais e gestantes com pré-eclâmpsia. Este trabalho mostra efeito dos androgênios na reatividade vascular, no sistema renina-angiotensina-aldosterona e na pré-eclâmpsia; todas as gestantes eram nulíparas, encontravam-se na mesma faixa etária e estavam no terceiro trimestre de gestação, semelhante ao nosso estudo.

A análise das correlações mostrou que quanto mais jovem a paciente, maiores os níveis de estradiol. Este dado é importante porque no nosso trabalho a paciente mais jovem apresentava 15 anos e a mais velha 28 anos, permitindo algumas variações.

Outros trabalhos seguiram investigando níveis androgênicos e pré-eclâmpsia, dosando também estrogênios (estriol ou estradiol séricos). Estudos envolvendo a progesterona ainda são inconclusivos em relação ao seu papel na etiologia da pré-eclâmpsia (Acromite *et al*, 1999; Serin *et al*, 2001; Bowyer *et al*, 2003).

Serin *et al* (2001) baseado no trabalho de Acromite (1999), mediram níveis de androgênios (testosterona, testosterona livre, SDHEA, androstenediona, SHBG e estradiol) em pacientes nulíparas com diagnóstico de pré-eclâmpsia no terceiro trimestre de gestação e 6 semanas após o parto e comparou com gestantes normais. Houve aumento de testosterona e testosterona livre no terceiro trimestre em gestantes com pré-eclâmpsia, ocorrendo diminuição 6 semanas após o parto em ambos os grupos de pacientes. Neste trabalho os níveis de estradiol foram semelhantes entre as pacientes normais e as pacientes com pré-eclâmpsia. Este autor concluiu que os níveis aumentados de androgênios podem estar relacionados com a patogênese da pré-eclâmpsia. Segundo Hahnel, as placentas de pacientes com hipertensão mostram deficiência da enzima aromatase; embora no estudo de Serin a atividade da aromatase placentária não tenha sido verificada, esta hipótese é possível para explicar o aumento de testosterona nas pacientes com pré-eclâmpsia (a

aromatase é responsável pela conversão de androgênios em estrogênios no processo de esteroidogênese) (Speroff *et al*, 1995). Contudo, seria esperado encontrar nestas pacientes diminuição do estradiol sérico (Serin *et al*, 2001).

No nosso estudo não foram determinados os níveis placentares de hormônios para comparação com níveis séricos, mas também não encontrou-se diminuição do estradiol e de progesterona nas pacientes analisadas.

Cabe considerarmos a relação entre os níveis séricos de estradiol e progesterona e suas concentrações nas placentas de pacientes com pré-eclâmpsia. Alguns autores acreditam que os níveis séricos possam estar normais e somente na análise de valores placentários de hormônios esteróides se consiga identificar alguma diferença entre gestantes normais e gestantes com pré-eclâmpsia (Walsh, 1988; Walsh e Coulter, 1989; Bhansali e Eugere, 1992).

Bhansali e Eugere (1992) encontraram aumento nos níveis de 17- $\beta$ -estradiol e progesterona em placentas de gestantes à termo com hipertensão quando comparadas com gestantes normais. Devido ao baixo número amostral, os resultados deste estudo tiveram suas conclusões limitadas (6 gestantes normais e 5 gestantes hipertensas).

Walsh realizou dois estudos com placentas e concluiu que placentas obtidas de gestantes com pré-eclâmpsia produzem mais tromboxano e menos prostaciclina que gestantes normais, e também produzem níveis maiores de progesterona. Os níveis de estradiol foram semelhantes em gestantes com pré-eclâmpsia quando comparadas com gestantes normais. Altas concentrações de progesterona inibiram a produção de prostaciclina (Walsh e Coulter, 1989; Walsh, 1998).

Outro aspecto a ser considerado é a abordagem terapêutica de pacientes com pré-eclâmpsia. Até o presente momento não há indícios de nenhum tratamento eficaz quando a patologia já está instalada, visando reversão do quadro clínico. Existem trabalhos que além

de tentar identificar fatores preditores de pré-eclâmpsia, como por exemplo, alterações no perfil hormonal, tentam verificar o efeito da administração de hormônios esteróides em pacientes com diagnóstico de pré-eclâmpsia (Sammour *et al*, 1982; Mizutani *et al*, 1988).

Sammour *et al* (1982) compararam primigestas com pré-eclâmpsia e com gestantes normais. Administrando 600 mg/dia de progesterona por um período que variou de 1 a 6 semanas, encontraram diminuição nos níveis de PAS e PAD, diminuição do edema e aumento do débito urinário, diminuição do peso, mas não verificou melhora da proteinúria nas pacientes com pré-eclâmpsia.

Mizutani *et al* (1988) também administraram progesterona, só que associada a estradiol, em 8 pacientes com pré-eclâmpsia no terceiro trimestre de gestação e verificaram diminuição da pressão arterial e do edema até a IG de 35 semanas, sendo que após esse período não houve mais resposta positiva sugerindo disfunção placentária. Neste estudo as doses iniciais de estradiol foram 20mg/dia e progesterona 80mg/dia, com aumento das doses ao longo dos dias de tratamento, num total de 23 dias, em média.

Buhimschi *et al* (1995) mostraram que é a progesterona, e não o estrogênio, que promove adaptações vasculares na gestação normal de ratos e, ainda que a progesterona pode ser benéfica para redução da pressão arterial. Nosso trabalho não encontrou correlação entre níveis tensionais com estradiol e progesterona e nem com óxido nítrico.

Carbajo *et al* (2003) estudaram níveis de estradiol e progesterona em ratas prenhas após uso de inibidor da síntese de óxido nítrico (L-NAME) e avaliaram também placentas e níveis tensionais em dias seriados. Houve aumento significativo da pressão arterial sistólica e diminuição do estradiol numa fase inicial (6<sup>o</sup> dia) e, numa fase tardia (18<sup>o</sup> dia), encontraram também diminuição da progesterona e do peso das placentas neste grupo experimental.

Svedas *et al* (2002) analisaram a disfunção endotelial na circulação uterina na pré-eclâmpsia. A disfunção endotelial na pré-eclâmpsia pode estar relacionada ao estresse oxidativo e à diminuição de agentes anti-oxidantes. As opções de tratamento devem ter por objetivo diminuir, reparar ou prevenir o dano endotelial. Estrogênios são anti-oxidantes, promovendo dilatação, prolongamento das respostas e envolvem a regulação da eNOS. Em cultura de células endoteliais o estrogênio pode estimular a via cálcio-ON. Segundo Rosing e Carlstrom, na pré-eclâmpsia ocorre diminuição da produção placentária de estrogênios, diminuição de precursores estrogênicos fetais e diminuição da conversão desses precursores em estrogênio pela placenta, resultando em baixos níveis séricos maternos de estrogênios (Svedas *et al*, 2002). Neste trabalho, após a incubação de 3 horas com 17- $\beta$ -estradiol de artérias miométriais isoladas de pacientes com pré-eclâmpsia, verificou-se redução do tônus basal e melhora do fluxo sanguíneo. Este efeito foi mediado pelo óxido nítrico, visto que na presença de inibidor da enzima e-NOS a resposta foi abolida. Os sinais morfológicos de disfunção endotelial foram evidentes nas mulheres com pré-eclâmpsia (a morfologia endotelial foi avaliada por microscopia eletrônica).

Nosso estudo analisou apenas níveis séricos de estradiol e progesterona e, conforme discutido, esses valores podem ser semelhantes entre as gestantes com SPE e as gestantes normais, pois o que pode estar ocorrendo é uma alteração na produção placentária, sem contudo haver repercussão à nível sistêmico. A análise desses hormônios nas placentas das pacientes por ocasião do parto poderia esclarecer muitas dessas constatações feitas até o presente momento.

Com relação ao óxido nítrico, não se pode concluir sobre o papel dos hormônios esteróides sexuais femininos na sua produção, visto não ter havido diferenças entre os mesmos nos dois grupos de gestantes estudadas.

## VI - CONCLUSÕES

Este estudo avaliou os níveis séricos de óxido nítrico e hormônios esteróides sexuais femininos em gestantes nulíparas no 3º trimestre de gestação com síndrome de pré-eclâmpsia e gestantes normais.

Os dados encontrados permitem concluir:

- Os níveis séricos de estradiol, progesterona e óxido nítrico não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre gestantes com SPE, quando comparadas com gestantes normais.
- Os níveis séricos de estradiol e progesterona apresentaram forte correlação entre si e com a idade da paciente, idade gestacional, peso do recém-nascido e peso da placenta. O ON apresentou apenas fraca correlação com a progesterona.
- Os níveis séricos de estradiol, progesterona e óxido nítrico, no terceiro trimestre da gestação, em gestantes nulíparas não parecem ter participação na fisiopatologia da síndrome de pré-eclâmpsia.

A hipótese de que as concentrações séricas de estradiol e progesterona estejam diminuídas em gestantes com SPE e que as concentrações dos hormônios esteróides sexuais possam estar associadas com alteração nos níveis de óxido nítrico sérico não foi confirmada no presente estudo.

## VII – REFERÊNCIAS

1. Abou-Mohamed G, Elmarakby A, Carrier GO, Catravas JD, Caldwell RW, White RE. Estradiol relaxes rat aorta via endothelium-dependent and –independent mechanism. *Pharmacology* 2003; 69 (1):20-6.
2. Acauan Filho, BJ. Metabólitos plasmáticos do óxido nítrico em primigestas normais e com síndrome de pré-eclâmpsia. Dissertação de Mestrado, Faculdade, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brasil, 2002.
3. Acromite MT, Mantzoros CS, Leach RE, Hurwitz J, Leonard G. Androgens in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180 (1):60-3.
4. Änggard E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet* 1994; 343:1199-1206.
5. Ballard JL, Khoury JC, Wedigk, Wang L, Eilers-Walsman BL, Lipp R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *J Pediatr* 1991; 119:417-23.
6. Batra S, Iosif C, Al-Hijji J, Larsson I. Important differences in nitric oxide synthase activity and predominant isoform in reproductive tissues from human and rat. *Reprod Biol Endocrinol.* 2003; 1(1): 10.
7. Baylis C, Beinder E, Súto T, August P. Recent insights into the roles of nitric oxide and renin – angio- tensin in the pathophysiology of preeclamptic pregnancy. *Seminars in Nephrology* 1998; 18 (2): 208-30.
8. Baylis C, Vallance P. Measurement of nitrite and nitrate levels in plasma and urine – what does this measure tell us about the activity of the endogenous nitric oxide. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998; 7:59-62.
9. Bhansali KG, Eugere EJ. Quantitative determination of 17 beta-estradiol and progesterone in cellular fractions of term placental of normal and hypertensive patients. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1992; 77 (2):161-9.
10. Bonner FT. Nitric oxide gas. *Method Enzymol* 1996; 268:51-7.
11. Bowyer L, Brown MA, Jones M. Forearm blood flow in pre-eclampsia. *BJOG* 2003; 110(4): 383-91
12. Broughton Pipkin F. What is the place of genetics in the pathogenesis of pre-eclampsia? *Biol Neonate* 1999; 76(6):325-30.

13. Brown MA. The physiology of pre-eclâmpsia. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1995; 22:781-91.
14. Buhimschi I, Yallampalli C, Chwalizz K, Garfield RE. Preeclampsia – like conditions produced by nitric oxide inhibition: effects of L-arginine, D-arginine and steroid hormones. *Human Reproduction* 1995; 10 (10): 2723-30.
15. Buhimschi IA, Yallampalli C, Buhimschi CS, Saade GR, Garfield RE. Distinct regulation of nitric oxide and cyclic guanosine monophosphate production by steroid hormones in the rat uterus. *Hum Reprod.* 2000; 6(5): 404-14.
16. Carbajo Rueda M, Munoz Rodriguez M, Fernandez Celadilla L. IGF-1, 17beta-estradiol and progesterone in SHR and in rats treated with L-NAME: fetal-placental development. *Arch Gynecol Obstet.* 2003.
17. Caritis S, Sibai B, Hauth J, Lindheimer M, VanDorsten P, Klebanoff M, *et al.* Predictors of pre-eclâmpsia in women at high risk. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:946-51.
18. Chwalisz K, Garfield RE. Role of nitric oxide in implantation and menstruation. *Hum Reprod* 2000; 15(3): 96-111.
19. Conrad KP, Kerchner LJ, Mosher MD. Plasma and 24-h NO (x) and cGMP during normal pregnancy and preeclampsia in women on a reduced NO (x) diet. *Am J Physiol* 1999; 277 (1 Pt 2):48-57.
20. Cunningham FG, MacDonald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap III LC, Hankins GDV, *et al.* Hypertensive disorders in pregnancy. In: Cunningham FG, MacDonald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap III LC, Hankins GDV, *et al.*, editors. *Williams obstetrics*. 20<sup>th</sup>.ed. Stamford: Appleton e Lange; 1997a. p.693-744.
21. Cunningham FG, MacDonald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap III LC, Hankins GDV, *et al.* The placenta and fetal membranes. In: Cunningham FG, MacDonald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap III LC, Hankins GDV, *et al.*, editors. *Williams obstetrics*. 20<sup>th</sup>.ed. Stamford: Appleton e Lange; 1997b. p.95-123.
22. Cunningham FG, MacDonald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap III LC, Hankins GDV, *et al.* The placental hormones. In: Cunningham FG, MacDonald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap III LC, Hankins GDV, *et al.*, editors. *Williams obstetrics*. 20<sup>th</sup>.ed. Stamford: Appleton e Lange; 1997c. p.125-50.
23. Darkow DJ, Lu L, White RE. Estrogen relaxation of coronary artery smooth muscle is mediated by nitric oxide and cGMP. *Am J Physiol* 1997; 272 (6 Pt 2):H2765-73.
24. Davidge ST, Stranko CP, Roberts JM. Urine but not plasma nitric oxide metabolites are decreased in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174 (3):1008-13.
25. Dawood MY, Ratnam SS. Serial estimation of serum unconjugated estradiol-17 beta in high-risk pregnancies. *Obstet Gynecol* 1974; 44:200-7.

26. Dawood MY. Circulating maternal serum progesterone in high-risk pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1976; 125(6): 832-40.
27. Dekker GA, Sibai BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:1359-75.
28. Dietl J. The pathogenesis of pre-eclâmpsia: new aspects. *J Perinat Med* 2000; 28:464-71.
29. Du Z, Sun M, Wang B, Qi Y, Ge Q. The effects of Sex hormone on blood vessels. 1999;21(4): 282-7.
30. Esplin MS, Fausett MB, Fraser A, Kerber R, Mineau G, Carrillo J, *et al.* Paternal and maternal components of the predisposition to preeclampsia. *N Engl J Med* 2001; 344:867-72.
31. Facchinetti F, Longo M, Piccinini F, Neri I, Volpe A. L-arginine infusion reduces blood pressure in preeclamptic women through nitric oxide release. *J Soc Gynecol Investing* 1999; 6 (4):202-7.
32. Ferris TF. Hipertensão e pré-eclâmpsia. In: Burrow GN, Ferris TF, editores. *Complicações clínicas durante a gravidez*. São Paulo: Roca; 1996. p.1-27.
33. Ficicioglu C, Kutler T. The role of androgens in the aetiology and pathology of preeclampsia. *J Obstet Gynaecol* 2003; 23 (2): 134-7.
34. Fisher SJ. The placenta dilemma. *Semin Reprod Med* 2000; 18:321-6.
35. Furchgott RE, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J* 1989; 3:2007-18.
36. Furchgott RE, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288:373-6.
37. Galão AO. Transporte eritrocitário de L-arginina na gestação e período pós-parto. Dissertação de Mestrado, Faculdade, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brasil, 2000.
38. Gifford, August PA, Cunningham G, Green LA, Lindheimer MD, Mcnellis D. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:S1-S22.
39. Graaf JC, Bangaa JD, Moncada S, Palmer RMJ, Groot PG, Sixma JJ. Nitric oxide functions as an inhibitor of platelet adhesion under flow conditions. *Circulation* 1992; 85:2284-90.
40. Granger JP, Alexander BT, Bennet WA, Khalil RA. Pathophysiology of pregnancy-induced hypertension. *Am J Hypertens* 2001a; 14:1785-1855

41. Granger JP, Alexander BT, Llinas MT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *Hypertension*. 2001b; 38:718-22.
42. Grunewald C. Biochemical prediction of preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1997; 164:104-7.
43. Guyton AC. Funções sexuais e hormônios femininos e gravidez e lactação. In: Guyton AC. *Tratado de Fisiologia Médica*. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. p. 925-54.
44. Hahnel ME, Martin LD, Michael CA, Hahnel R. Metabolism of androstenedione by placental microsomes in pregnancy hypertension. *Clin Chim Acta* 1989; 181: 103-8.
45. Hata T, Hashimoto M, Kanenishi K, Akiyama M, Yanagihara T, Masumura S. Maternal circulating nitrite levels are decreased in both normal normotensive pregnancies and pregnancies with preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 1999; 48 (2):93-7.
46. Higgins JR, de Swiet M. Blood-pressure measurement and classification in pregnancy. *Lancet* 2000; 357:131-5.
47. Hopkins WG. A new view of statistics: effect magnitudes. Disponível em <<http://sportsci.org/resurce/stats/effectmag.html>>. Acesso em 10.01.2004.
48. Hsu CD, Chan DW, Iriye B, Johnson TR, Hong SF, Repke JT. Elevated serum human chorionic gonadotropin as evidence of secretory response in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170:1135-8.
49. Huang A, Sun D, Kaley G, Koller A. Estrogen maintains nitric oxide synthesis in arterioles of female hypertensive rats. *Hypertension* 1997; 29 (6): 1351-6.
50. Isler CM, Martin Jr. JN. Preeclampsia: pathophysiology and practice considerations for the consulting nephrologist. *Semin Nephrol* 2002; 22:54-64.
51. James WH. Hormone levels in preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2002; 81:1152.
52. Khorram O, Garthwaite M, Magness RR. Endometrial and myometrial expression of nitric oxide synthase isoforms in pre- and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metabol*. 1999; 84(6): 2226-32.
53. Kincaid -Smith P. The renal lesion of preeclampsia revisited. *Am J Kidney Dis* 1991; 17(2): 144-8.
54. Kincaid-Smith PS, Fairley KF. Morphological changes in preeclampsia. In: Kincaid-Smith PS, Fairley KF. *The kidney and hypertension in pregnancy*. Edinburgh, Churchill Livingstone; 1993, p. 25.

55. Lenfant C, Gifford RJ, Zuspan FP. National High Blood Pressure Education Program Working Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163:1689-712.
56. Liao QP, Buhimschi IA, Saade G, Chwalisz K, Garfield RE. Regulation of vascular adaptation during pregnancy and post-partum: effects of nitric oxide inhibition and steroid hormones. *Hum Reprod* 1996; 11 (12):2777-84.
57. Lyall F, Young A, Greer IA. Nitric oxide concentrations are increased in the fetoplacental circulation in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 17:714-18.
58. Malinsky T, Taha Z. Nitric oxide release from a single cell measured *in situ* by a porphyrinic-based microsensor. *Nature* 1992; 358:676-8.
59. Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, McFadyen IR, van Asshe A. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe preeclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 1994; 101:669-74.
60. Miller L, Alley EW, Murphy WJ, Russell SW, Hunt JS. Progesterone inhibits inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide production in murine macrophages. *J Leukoc Biol.* 1996; 59(3): 442-50.
61. Miller NR, Garry D, Cohen HW, Figueroa R. Serum androgen markers in reeclâmpsia. *J Reprod Med* 2003; 48 (4):225-9.
62. Ministério da Saúde. Sistema de referência provocará queda da mortalidade materna. Brasil. Governo Federal. InformeSaúde[periódico online]1999 out[citado 2002 set 17]; 3 (27):[2telas]. Disponível em URL: <http://portalweb01.saude.gov.br/saude/aplicacoes/informe/arquivos/informe-27.pdf>.
63. Mizutani S, Kuranchi O, Ito Y, Narita O, Tomoda Y. Positive effect of estradiol and progesterone in severe preeclampsia. *Exp Clin Endocrinol* 1988; 92 (2):161-70.
64. Moncada S, Palmer R, Higgs A. The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension* 1988; 12 (4):365-72.
65. Moncada S, Palmer R, Higgs A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43:109-42.
66. Moncada S. Nitric oxide in the vasculature: physiology and pathophysiology. *Ann NY Acad Sci* 1997; 811:60-7.
67. Neme B. Doença hipertensiva específica da gestação. In: Rezende J. *Obstetrícia*. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p. 643-90.
68. Neme B, Parpinelli MA. Síndromes hipertensivas na gravidez. In: Neme B, editor. *Obstetrícia básica*. 2ª .ed. São Paulo: Sarvier; 2000.p.282-322.
69. Nobunaga T, Tokugawa Y, Hashimoto K, Kimura T, Matsuzaki N, Nitta Y, Fujita T, Kidoguchi K, Azuma C, Saji F. Plasma nitric oxide levels in pregnant patients with preeclampsia and essential hypertension. *Gynecol Obstet Invest* 1996; 41 (3):189-93.

70. Novak K, Kaufman S. Effects of pregnancy, estradiol, and progesterone on pressor responsiveness to angiotensin II. *Am Physiol Society* 1991; R1164-70.
71. Obiekwe BC, Sturdee D, Cockrill BL, Chard T. Human placental lactagen in preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1984; 91:1077-80.
72. Odegard RA, Vatten LJ, Nielsen ST, Salvesen KA, Austgulen R. Risk factors and clinical manifestations of preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 2000; 107:1410-16.
73. Oestreicher M, Oestreicher S, Schmidt-Goll-Witzer M. Daily variations in pregnancy hormones. *Z Geburtshilfe Perinatol* 1985; 189 (3):140-3.
74. Ogando D, Farina M, Ribeiro ML, Perez Martinez S, Cella M, rettori V, Franchi <sup>a</sup> Steroid hormones augment nitric oxide synthase activity and expression in rat uterus. *Reprod Fert Dev.* 2003; 15(5): 269-74.
75. Orshal JM, Khalil RA. Gender, Sex hormones, and vascular tone. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286(2): R233-49.
76. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327:524-6.
77. Palmer RM, Rees D, Ashton DS, Moncada S. L-arginine is the physiological precursor for the information of nitric oxide in endothelial-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 153 (3):1251-6.
78. Pathak N, Sawhney H, Vasishta K, Majumdar S. Estimation of oxidative products of nitric oxide (nitrates, nitrites) in preeclampsia. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1999; 39 (4): 484-7.
79. Pijnenborg R, Dixon G, Robertson WB, Brosens I. Trophoblastic invasion of human decidua from 8 to 18 weeks of pregnancy. *Placenta* 1980;1:3-19.
80. Pijnenborg R, Anthony J, Davey DA, Rees A, Tiltman A, Vercruyse L, *et al.* Placental bed spiral arteries in the hypertensive disorders of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1991; 98:648-55.
81. Podjarny E, Mandelbaum A, Bernheim J. Does nitric oxide play a role in normal pregnancy and pregnancy-induced hypertension? *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9:1527-9.
82. Poli de Figueiredo CE, Pinheiro da Costa BE, Antonello ICF, Valdes G, Germain AM. Pregnancy: women's stress test. *Brit Med J Letter* 2003.
83. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. The role of nitric oxide and cGMP in platelet adhesion to vascular endothelium. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 148 (3):1482-9.
84. Ranta V, Viinikka L, Halmesmaki E, Ylikorkala O. Nitric oxide production with preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1999; 93 (3):442-5.

85. Redman CW, Sargent IL. The pathogenesis of pre-eclâmpsia. *Gynecol Obstet Fertil* 2001; 29:518-22.
86. Reis FM, Florio P, Cobellis L, Luisi S, Severi FM, Bocchi C, *et al.* Human placenta as a source of neuroendocrine factors. *Biol Neonate* 2001;79:150-6.
87. Rezende J, Coslovsky S. Repercussões da gravidez sobre o organismo: modificações sistêmicas. In: Rezende J, editor. *Obstetrícia*. 8ª.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p.135-52.
88. Rezende J, Linhares E. Endocrinologia do ciclo gestativo. In: Rezende J. *Obstetrícia*. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p. 120-34.
89. Roberts JM, Cooper DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclâmpsia. *Lancet* 2001;357:53-6.
90. Rosenfeld CR, Jackson GM. Estrogen-induced refractoriness to the pressor effects of infused angiotensin II. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 148:429-35.
91. Rosenfeld CR, White RE, Roy T, Cox DE. Calcium-activated potassium channels and nitric-oxide coregulate estrogen-induced vasodilatation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279 (1):H319-28.
92. Rosing U, Carlstrom K. Serum levels of unconjugated and total oestrogens and dehydroepiandrosterone, progesterone and urinary oestriol excretion in pre-eclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 1984; 18: 199-205.
93. Rozas A. Hormonologia da prenhez. In: Neme B, editor. *Obstetrícia básica*. 2ª .ed. São Paulo: Sarvier; 2000. p.51-66.
94. Sagen N, Nilsen ST, Kim HC, Koller O, Bergsjø P. The predictive value of total estriol; HPL and Hb on perinatal outcome in severe preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1984; 63:603-8.
95. Salzman AL, linn SC, Szabo C. Progesterone inhibits nitric oxide synthase mRNA expression in human intestinal epithelial cells. *Int J Mol Med*. 2000; 6(2): 209-16.
96. Sasmour MB, El-makhzangy MN, Fawzy MM, Schindler A. Progesterone therapy in pregnancy induced hypertension therapeutic value and hormonal profile. *Clin Exp Hypertens B* 1982; 1 (4):455-78.
97. Sanyal M, Nag TC, das C. Localization of nitric oxide synthase in human trophoblast cells: role of nitric oxide in trophoblast proliferation and differentiation. *Am J Reprod Immunol*. 2000; 43(2): 70-7.
98. Sartin JL, Elsasser TH, Khal S, Baker J, Daniel JÁ, Schwartz DD, Steele B, Whitlock BK. Estradiol plus progesterone treatment modulates select elements of the proinflammatory cytokine cascade in steers:attenuated nitric oxide and thromboxane B2 production in endotoxemia. *J Anim sci*. 2003; 81(6): 1546-51.

99. Seligman SP, Buyon JP, Robert MC, Young BK, Abramson SB. The role of nitric oxide in the pathogenesis of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171 (4):944-8.
100. Serin IS, Kula M, Basbug M, Unluhizarci K, Gucer S, Tayyar M. Androgen levels of pre-eclamptic patients in the third trimester of pregnancy and six week after delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2001; 80 (11):1009-13.
101. Shaamash AH, Elsnosy ED, Makhlof AM, Zakhari MM, Ibrahim OA, El-Dien HM. Maternal and fetal serum nitric oxide (NO) concentrations in normal pregnancy, preeclampsia and eclampsia. In *J Gynaecol Obstet* 2000; 68 (3):207-14.
102. Shi L, Shi SQ, Given RL, von Hertzen H, Garfield RE. Synergistic effects of antiprogestins and iNOS or aromatase inhibitors on establishment and maintenance of pregnancy. *Steroids*. 2003; 68(10-13): 1077-84.
103. Sorensen TK, Williams MA, Zingheim RW, Clement SJ, Hickok DE. Elevated second-trimester human chorionic gonadotropin and subsequent pregnancy-induced hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:834-8.
104. Spector N. Manual para a redação de teses, projetos de pesquisa e artigos científicos. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
105. Speroff L, Glass RH, Kase NG. A endocrinologia da gestação. In: Speroff L, Glass RH, Kase NG. 5ª ed. São Paulo: Manole; 1995. p. 259-99.
106. Storment JM, Meyer M, Osol G. Estrogen augments the vasodilatory effects of vascular endothelial growth factor in the uterine circulation of the rat. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183 (2): 449-53.
107. Svedas E, Nisell H, Van Wijk MJ, Nikas Y, Kublickiene KR. Endothelial dysfunction in uterine circulation in preeclampsia: can estrogens improve it? *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187 (6):1608-16.
108. Tamai T, Matsuura S, Tatsumi N, Nunotani T, Sagaura N. Role of sex steroid hormones in relative refractoriness to angiotensin II during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 149 (2):177-83.
109. Taylor RN, Lebovic DI, Martin-Cadieux MC. The endocrinology of pregnancy. In: Greenspan FS, Gardner DG, editors. *Basic e clinical endocrinology*. 6<sup>th</sup>.ed. New York: Lange Medical Books; 2001. p.575-602.
110. Thompson J, Khalil RA. Gender differences in the regulation of vascular tone. *Clin Exp Pharmacol Physiol*.2003; 30(1-2): 1-15.
111. Tulchinsky D, Okada DM. Hormones in human pregnancy. IV. Plasma progesterone. *Am J Obstet Gynecol* 1975; 121:293-9.
112. Van Buren GA, Young DS, Clark KE. Estrogen-induced uterine vasodilation is antagonist by L-nitroarginine methyl ester, na inhibitor of nitric oxide synthesis. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167:828-33.

113. Walker JJ. Pre-eclâmpsia. *Lancet* 2000;356:1260-5.
114. Wallenburg HC. Prevention of hypertensive disorders in pregnancy. *Clin Exper Hypertens B* 1988;7B:121-37.
115. Walsh SW. Progesterone and estradiol production by normal and preeclamptic placentas. *Obstet Gynecol* 1988; 71 (2):222-6.
116. Walsh SW, Coutter S. Increased placental progesterone may cause decreased placental prostacyclin production in preeclampsia. *Am J Obst Gynecol* 1989; 161 (6 Pt 1):1586-92.
117. Wang Y, Walsh SW. Hormonal and related mechanisms for preeclampsia of pregnancy. *The Endocrinologist* 1997; 7: 238-44.
118. Weiner CP, Thompson LP. Nitric oxide and pregnancy. *Semin Perinatol* 1997; 21 (5): 376-80.
119. White MM, Zamudio S, Stevens T, Tyler R, Lindenfeld J, Leslie K, Moore LG. Estrogen, progesterone, and vascular reactivity: potencial cellular mechanisms. *Endocrine Reviews by The Endocrine Society* 1995 dec; 16 (6): 739-51.
120. White RE. Estrogen and vascular function. *Vascul Pharmacol* 2002; 38 (2):73-80.
121. Yen SSC. Endocrine-metabolic adaptations in pregnancy. In: Yen SSC, Jaffe RB, editors. *Reproductive endocrinology: physiology, pathophysiology and clinical management*. 3<sup>rd</sup>.ed. Philadelphia: Saunders; 1991. p.936-81.
122. Zamudio S, Leslie KK, White M, Hagerman D, Moore LG. Low serum estradiol and high serum progesterone concentrations characterize hypertensive pregnancies at high altitude. *J Soc Gynecol Invest* 1994; 1 (3):197-205.
123. Zanella, PLA. Dosagem de gonadotrofina coriônica humana-fração  $\beta$  e  $\bullet$  lactogênio placentário humano em gestantes normais e com síndrome de pré-eclâmpsia. Dissertação de Mestrado, Faculdade, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brasil, 2002.
124. Zhang M, Wang GJ, Benishin CG, Pang PK. Rapid effect of progesterone on the contraction of rat aorta in-vitro. *J Pharm Pharmacol*. 2002 54(11): 1529-34.

# **ANEXOS**

**TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO****FOLHA DE INFORMAÇÕES FORNECIDAS ÀS PACIENTES  
LINHA DE PESQUISA EM NEFROLOGIA:  
ENFOQUE NA GESTAÇÃO E PRESSÃO ARTERIAL**

**Equipe de pesquisa:** Adriani Galão, Anie Letícia Schmitz Reitz, Breno José Acauan Fº, Gerson Roberto Geiger, Ioná Rosine Scolari Conceição, Pedro Luis Ávila Zanella, Plínio Vicente Medaglia Fº, Fabíola Zoppas Fridman.

**Orientadores:** Bartira E. Pinheiro, Carlos Eduardo Poli de Figueiredo, Domingos Lorenzoni d'Ávila, Ivan Carlos Ferreira Antonello.

**Nome da paciente:**.....

**Objetivos:** A presente Linha de Pesquisa visa investigar diversos aspectos da gestação, regulação da pressão arterial e hipertensão gestacional. É parte da linha de pesquisa do Curso de Pós-graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina, Laboratório de Nefrologia do Instituto de Pesquisas Biomédicas da PUCRS.

Os objetivos destes estudos são de avaliar fatores que estejam relacionados a fisiologia da gestação e fisiopatogenia dos distúrbios da mesma, em especial da hipertensão arterial.

**Procedimentos a serem utilizados:** Você está sendo convidada para uma entrevista com um dos pesquisadores, na qual será perguntado se deseja participar da pesquisa. Caso concorde, após assinar este Termo de Consentimento Informado, serão perguntados dados de sua história médica pregressa, coletado um volume aproximado de até 20 mL de sangue venoso, além das coletas próprias dos exames rotineiros da assistência pré-natal, e também serão consultados os dados de seu prontuário médico.

Após o parto a placenta e o cordão umbilical são desprezados. Em alguns casos uma amostra deste material será coletada.

**Riscos e benefícios:** Os riscos ou desconfortos dessa pesquisa são considerados mínimos ou até nulos, restritos às coletas de sangue. A presente pesquisa se propõe a colaborar no aumento do conhecimento sobre a gestação e seus distúrbios relacionados à regulação da pressão arterial, não trazendo necessariamente benefícios adicionais para as pacientes participantes.

**Confidencialidade:** Os registros serão mantidos em sigilo e usados somente para fins da presente linha de pesquisa, permanecendo sua identidade em segredo.

**Liberdade:** A sua participação na pesquisa é totalmente voluntária e poderá retirar o seu consentimento a qualquer momento sem o prejuízo de seu tratamento e sem a necessidade de explicar o motivo.

**TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO****DECLARAÇÃO**

Eu,....., fui informada pelo (a) Dr (a)..... dos objetivos específicos e das justificativas dessa pesquisa de forma bem clara e detalhada. Recebi informações sobre cada procedimento que estarei envolvida, dos riscos previstos e dos benefícios esperados.

Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza, e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento.

Estou ciente que as informações por mim fornecidas serão de caráter confidencial e usadas somente para a presente pesquisa.

Fui informada que se existirem danos a minha saúde, causados diretamente pela pesquisa, terei direito a tratamento médico e indenização, conforme estabelece a lei. Também sei que se existirem gastos adicionais diretamente relacionados à pesquisa, estes serão absorvidos pelo seu orçamento.

Caso tiver novas perguntas sobre a presente investigação, posso chamar o investigadores pelo telefone 3320 30 00 - Ramais 2222 ou 2312, para qualquer dúvida sobre os meus direitos como participante deste estudo. Se algum possível prejuízo surgir pela minha participação, posso chamar os orientadores da presente pesquisa igualmente pelo telefone 3320 30 00 - Ramal 2344.

Esta pesquisa tem aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS.

Sob as condições acima mencionadas, concordo em participar do presente estudo.

Declaro que recebi cópia do presente Termo de Consentimento Informado, aprovando-o e assinando-o após lê-lo com todo o cuidado possível.

Porto Alegre, de de 20\_\_\_\_

.....  
Paciente ou Responsável  
CI:

.....  
Investigador  
CRM:

## PROTOCOLO: DOSAGEM ESTRADIOL, PROGESTERONA E ON EM GESTANTES NORMAIS E COM SPE

### IDENTIFICAÇÃO:

NOME: \_\_\_\_\_ PROTOCOLO: \_\_\_\_\_ REGISTRO HSL \_\_\_\_\_

ENDEREÇO: \_\_\_\_\_

FONE: \_\_\_\_\_

RAÇA: branca                      mista                      negra                      IDADE: \_\_\_\_\_

### ANAMNESE:

DUM: \_\_\_\_\_ Certeza: sim                      não                      IG: \_\_\_\_\_ (DUM) \_\_\_\_\_ (ECO)

G \_\_\_ P \_\_\_ A \_\_\_ Provocados                      Espontâneos

### HISTÓRIA MÉDICA PREGRESSA:

INFECÇÃO URINÁRIA: não                      sim →                      infância                      idade adulta  
HAS                      PE prévia                      DM                      OUTROS: \_\_\_\_\_

### HISTÓRIA FAMILIAR:

HAS: não                      sim → parentesco: \_\_\_\_\_

### EXAME FÍSICO E LABORATORIAL:

DATA: \_\_\_\_\_ IG (sem): \_\_\_\_\_ EDEMA: \_\_\_\_\_

PAS (mmHg): \_\_\_\_\_ PAD (mmHg): \_\_\_\_\_

ALTURA (m): \_\_\_\_\_ PESO (kg): \_\_\_\_\_

QUALITATIVO DE URINA: pH: \_\_\_/dens: \_\_\_                      prot. \_\_\_+/ hem \_\_\_+                      leuc \_\_\_/ hem \_\_\_/ cél \_\_\_ p/c

HCT (%): \_\_\_\_\_ HB (g/dL): \_\_\_\_\_ ÁCIDO ÚRICO (mg/dL): \_\_\_\_\_

CREATININA (mg/dL): \_\_\_\_\_ GLICEMIA DE JEJUM (mg/dL): \_\_\_\_\_

PROTEINÚRIA DE AMOSTRA (mg/dL): \_\_\_\_\_ CREATININÚRIA DE AMOSTRA (mg/dL): \_\_\_\_\_

PROTEINÚRIA DE 24h (mg/24h): \_\_\_\_\_

FUNDOSCOPIA: \_\_\_\_\_

EXAMES (\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_) IG: \_\_\_\_\_ SEM/DUM IG: \_\_\_\_\_ SEM/ECO IG: \_\_\_\_\_ SEM/CAP

Estradiol: \_\_\_\_\_ Progesterona: \_\_\_\_\_ ON: \_\_\_\_\_

DADOS DO PARTO: DIA \_\_\_\_\_ HORA \_\_\_\_\_

TIPO DE PARTO: Normal                      Cesáreo por \_\_\_\_\_

### DADOS DO RECÉM-NASCIDO:

SEXO:    • F                      • M                      APGAR \_\_\_/\_\_\_                      IGO (sem) \_\_\_\_\_ IGP \_\_\_\_\_ (sem)

• AIG                      • GIG                      • PIG

PESO DO RN: \_\_\_\_\_ g                      PESO PLACENTA: \_\_\_\_\_ g

COMPLICAÇÕES: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_