

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Dilatação Mediada Por Fluxo Da Artéria Braquial E
Síndrome De Pré-Eclampsia

EDSON VIEIRA DA CUNHA FILHO

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: NEFROLOGIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Dilatação Mediada Por Fluxo Da Artéria Braquial E
Síndrome De Pré-Eclâmpsia

EDSON VIEIRA DA CUNHA FILHO

Dissertação de Mestrado sob orientação:

Dra. Bartira Ercília Pinheiro da Costa

Dr. Carlos Eduardo Poli de Figueiredo

Porto Alegre, RS, Brasil

JANEIRO DE 2009

FONTES FINANCIADORAS

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS)

Este trabalho foi desenvolvido na Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, no Laboratório de Nefrologia do Instituto de Pesquisas Biomédicas, no Ambulatório de Hipertensão na Gestação vinculado ao Serviço de Obstetrícia do Hospital São Lucas da PUCRS e no Ambulatório de Hipertensão Gestacional vinculado ao Serviço de Nefrologia do Hospital São Lucas da PUCRS.

DEDICATÓRIA

A Deus, pela dádiva do dom da sabedoria, da inteligência e da ciência, fundamentais para a prática médica, para a prática da pesquisa e para os passos certos na condução do meu dia-a-dia.

Ao Dr. Edson e à Dona Catarina, pela bênção diária e curativa das asas do amor paterno.

À PUCRS e, principalmente ao Hospital São Lucas, berço de todo o meu conhecimento profissional (e muita parte do meu conhecimento de vida), onde fiz minha graduação, especialização, pós-graduação e onde hoje, com muito orgulho, trabalho.

Ao Serviço de Obstetrícia, que desde quando comecei a “engatinhar” dentro da Medicina me acolheu e apostou em minha capacidade.

Ao Serviço de Nefrologia, que de portas abertas, me garantiu esta experiência e oportunidade.

À Carol, além do que tudo já dito, pelo simples fato de saber como fazer os meus dias passarem com mais prazer, graça, autoconfiança e alegria.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Bartira Ercília Pinheiro da Costa, minha querida orientadora. Bartira, tu és um gênio, desenhada para que com tua inteligência nos simplifique os desafios da ciência e da estatística e para que com teu otimismo nos diga sempre a palavra certa para acreditarmos em nossos sonhos.

Ao Dr. Carlos Eduardo Poli de Figueiredo, co-orientador, exemplo de professor, e por sua disponibilidade ímpar, com a qual me acolheu, me adotou e, mesmo nos momentos mais indevidos, respondeu aos meus impertinentes chamados.

Ao Dr. Breno José Acauan Filho, co-orientador, exemplo de profissional, responsável por tirar meus medos juvenis e transformá-los em segurança, valentia, determinação e destreza na prática médica assistencial obstétrica.

A todos os meus mestres, tão responsáveis pela moldagem e solidificação de minha conduta, caráter e atitudes profissionais e pessoais.

Aos colegas do Serviço de Obstetrícia do Hospital São Lucas da PUCRS, com agradecimento especial aos Residentes, que sempre me ajudaram na captação dos pacientes que compuseram a amostra da minha pesquisa.

Aos colegas do Serviço de Nefrologia, meus professores do pós-graduação, que com sua tranquilidade e sapiência de ensino, colaboraram em grande parte para a conclusão desta dissertação.

A todos os meus familiares, irmã, tios, padrinhos, segunda mãe, sogros, cunhados, por sempre facilitarem as minhas dúvidas e decisões.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	08
CONSIDERAÇÕES SOBRE A DISSERTAÇÃO.....	12
CAPÍTULO 1 – ARTIGO DE REVISÃO	14
CAPÍTULO 2 – ARTIGO ORIGINAL	35
CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	57

INTRODUÇÃO

A toxemia gravídica, ou pré-eclampsia, é uma das doenças mais importantes em Obstetrícia. Incide em cerca de 8% das primigestas, sendo a maior causa de mortalidade materna e perinatal. Na vigência de toxemia, a mortalidade perinatal está aumentada em cinco vezes, e 40% dos partos pré-termo iatrogênicos são dela decorrentes, assim como, 25% dos recém-nascidos de muito baixo-peso (< 1500g) (Gifford, 2000; Roberts & Hubel, 2009).

Em relação à fisiopatologia da pré-eclâmpsia, está clara a idéia de que a placenta é pré-requisito para o desenvolvimento da síndrome, pois a cura depende da sua retirada. A hipótese é de que a placenta em hipóxia dê origem a certas substâncias que determinam as manifestações maternas da doença (Gifford, 2000; Maynard e cols, 2003; Levine e cols, 2004, 2006).

A pré-eclampsia é hoje considerada doença de dois estágios. Na gravidez normal há diminuição da resistência das artérias espiraladas no miométrio e na decídua materna, decorrente da invasão do trofoblasto extraviloso nas artérias espiraladas, o que desestrutura a musculatura lisa vascular com conseqüente dilatação dos vasos. A redução da resistência vascular, por sua vez, resulta em aumento da perfusão da placenta. Esse processo está completo em torno da 26ª semana de gestação. Contrário à gravidez normal, essa transformação é aberrante na pré-eclampsia, deixando a circulação uteroplacentária em regime de alta-resistência, o que corresponde ao estágio I da doença (Roberts & Gammill, 2005; Mombouli & Vanhoutte, 1999; Roberts & Hubel, 2009).

O segundo estágio envolve a resposta materna com a ativação dos sistemas inflamatórios e a disfunção da célula endotelial. Embora a base para essa resposta seja multifatorial,

importantes desequilíbrios bioquímicos têm sido propostos para explicá-la. O tromboxano A₂ (TXA₂) é vasoconstritor potente, que estimula a agregação plaquetária e a contração uterina, e por isso reduz o fluxo sanguíneo uteroplacentário. Ao contrário do tromboxano, a prostaciclina (PGI₂) é vasodilatador potente, que inibe a agregação plaquetária e a contratilidade uterina, promovendo aumento no fluxo uteroplacentário. Em condições normais, na gravidez, a produção de prostaciclina é favorecida. Todavia, a produção de TXA₂ é privilegiada na gravidez toxêmica, promovendo uma redução na perfusão placentária. De outra forma, tem sido estabelecido que placentas pré-eclâmpicas produzem significativamente mais lipídios peróxidos do que placentas normais. TXA₂ e lipídios peróxidos são produzidos pelas células trofoblásticas e, propõe-se também, que estes lipídios peróxidos possam ser toxinas placentárias liberadas na circulação materna, provocando a doença (Mombouli & Vanhoutte, 1999; Roberts & Hubel, 2009; Chambers e cols, 2001).

Outro conceito também tem sido implicado na gênese da pré-eclampsia, o estresse oxidativo. Mulheres com pré-eclampsia têm comprometimento no equilíbrio, na homeostase de agentes oxidantes (a própria gestação já é um evento oxidativo) e antioxidantes (Conors & Merrill, 2004). Na toxemia, o sistema oxidante-antioxidante está desregulado com predomínio do estresse oxidativo sobre a capacidade antioxidante. Isto ocorre mais provavelmente no segundo e terceiro trimestre quando a placenta cresce em nível acelerado (Fenster e cols, 2003). De modo que qualquer que seja a circunstância capaz de conduzir um aumento do estresse oxidativo, a disfunção endotelial é o principal efeito. Paralelamente, a constatação de endoteliose capilar glomerular foi, durante muito tempo, considerada patognomônica da toxemia gravídica e a identificação deste evento confirma a disfunção endotelial. Artérias, na mulher pré-eclâmpica, têm maior reatividade e menor dilatação, fatos que advém da alteração de varias moléculas, entre elas a diminuída biodisponibilidade de óxido nítrico (NO). Substâncias que estão associadas à

disfunção endotelial, como VCAM-1 e fibronectina, estão elevadas no plasma de pré-eclâmpicas (Chavarría, 2002).

Desta forma, as evidências apresentadas referentes ao papel crucial do endotélio, tanto na gestação normal como na pré-eclampsia, sugerem que a avaliação da função vascular nestas pacientes pode contribuir muito para o entendimento da fisiopatogenia e acompanhamento clínico desta patologia.

O estudo da função endotelial pela DMF

A função endotelial tem sido avaliada por uma variedade de métodos. O método não-invasivo mais utilizado para a avaliação da função arterial é a ultra-sonografia da artéria braquial. Esta técnica (dilatação mediada por fluxo - DMF) foi descrita inicialmente por Anderson e Mark, em 1989, e trabalhos da década de 90 já mostraram, por exemplo, a correlação forte entre a DMF das artérias coronárias e braquial (Anderson & Mark, 1989; Corretti e cols, 1995).

A DMF é designada como um processo endotélio-dependente que reflete o relaxamento de um conduto arterial quando exposto a um aumento no fluxo sanguíneo e, conseqüentemente, a uma tensão de cisalhamento aumentada. Quando o fluxo de sangue aumenta em um vaso, o mesmo dilata. Medidas de DMF diminuídas refletem disfunção endotelial (Moens e cols, 2005). Em artérias periféricas, um aumento temporário na tensão de cisalhamento, pode ser produzido pela elevação do fluxo sanguíneo local. Isto é conhecido como hiperemia reativa. A hiperemia reativa pode ser induzida inflando-se um manguito pneumático ao redor do braço ou antebraço, e desinsuflando após 5 minutos. Este procedimento oclui o fluxo arterial, resultando na diminuição abrupta da resistência vascular. Após 60 a 90 segundos da desinsuflação, o diâmetro arterial é medido para determinar o máximo diâmetro pós-hiperemia. A DMF é expressa como a variação

absoluta ou relativa no diâmetro, a partir da medida do diâmetro basal (Faulx e cols, 2003; Moens e cols, 2005).

A tensão de cisalhamento é principalmente determinada pelo fluxo sanguíneo, e funciona como uma força exercida em um vetor perpendicular ao eixo longo do vaso. O endotélio atua como um mecano-transdutor que capta as variações na tensão de cisalhamento, e subsequentemente modifica a liberação de fatores dilatadores (Sader & Celermajer, 2002). Tem sido demonstrado que a DMF é, predominantemente, dependente do NO derivado do endotélio. A membrana celular endotelial contém canais iônicos especializados, como canais de potássio, que se abrem em resposta à tensão de cisalhamento. O efeito do canal de potássio aberto é hiperpolarizar a célula endotelial, possibilitando a entrada de cálcio. O cálcio ativa a enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), gerando NO a partir do amino ácido L-arginina. O NO difunde-se através da membrana celular, sinalizando a formação de GMP cíclico na célula da musculatura lisa dos vasos. Dá-se então o relaxamento vascular que pode ser avaliado na DMF (Moncada & Higgs, 1993). O mecanismo da dilatação mediada por fluxo é dependente do NO e da integridade funcional do endotélio, e visa restabelecer a homeostase do fluxo. A ultrasonografia da artéria braquial consegue determinar a mudança do diâmetro da artéria em resposta ao aumento de fluxo por hiperemia reativa, decorrente da oclusão arterial.

Alguns autores já utilizaram a DMF para avaliar a função endotelial em gestações normais e patológicas, principalmente naquelas complicadas por diabetes e pré-eclâmpsia. Foi constatado que as medidas de DMF de pré-eclâmplicas são menores que de gestantes controles (Cockell & Poston, 1997; Chambers e cols, 2001).

Gestantes que desenvolvem elevação nos níveis pressóricos, com perda significativa de proteína na urina, após as 20 semanas de gestação, possuem o diagnóstico de síndrome de pré-eclâmpsia (SPE) segundo o relatório do *National High Blood Pressure Education Program*

Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy (NHBPEPWGHBPP) (Gifford e cols, 2000). Na prática clínica não se consegue, assim, diferenciar aquelas gestantes com episódios de pré-eclampsia pura, daqueles quadros de pré-eclampsia sobrepostos a um processo de hipertensão prévia (naquelas pacientes que não se sabiam hipertensas) no momento da gestação e ocorrência do quadro sindrômico, somente decorridos 90 dias do parto.

No presente estudo foi avaliada a DMF de pacientes com síndrome de pré-eclampsia, buscando averiguar se existe diferença na reatividade endotelial das pacientes com pré-eclampsia pura comparadas àquelas com pré-eclampsia sobreposta à hipertensão crônica. Esta diferenciação, se comprovada, indubitavelmente trará um grande benefício à ciência e contribuirá grandemente ao serviço médico prestado às pacientes com SPE, tanto no campo assistencial, com na identificação de casos com disfunção endotelial mais severos, como no campo da saúde pública (quando as pacientes precisam retornar 90 dias após seu parto a uma consulta médica, para se estabelecer o diagnóstico de hipertensão crônica). Neste caso o diagnóstico de hipertensão crônica, e por conseguinte, atenção especial a esta paciente, poderá ser realizada durante a gestação, com instituição de terapêutica apropriada em um período de puerpério mais antecipado. Assim evitando-se o retorno tardio ao ambulatório, o aumento das filas de atendimento dos serviços públicos de assistência à saúde, e a perda da vaga por outra paciente que necessite de consulta.

CONSIDERAÇÕES SOBRE A DISSERTAÇÃO

O programa de Pós-graduação em Medicina e Ciências da Saúde – FAMED / PUCRS não exige um formato específico para a apresentação da dissertação de mestrado. Assim, o formato apresentado segue a preferência do autor, sendo a mesma escrita segundo as recomendações de Spector (2000). As referências bibliográficas citadas seguiram as normas de *Vancouver* e as citações indicadas no texto seguiram o sistema de citações em seqüência.

A idéia inicial do presente estudo foi aplicar a técnica da DMF para predição de pré-eclampsia no Serviço de Obstetrícia do Hospital São Lucas /PUCRS. Conheci esta técnica em 2006, quando estive em Ribeirão Preto fazendo uma pós-graduação em Ultra-sonografia Obstétrica e Ginecológica. Como o Dr. Breno Acauan Filho, colega do Serviço de Obstetrícia do HSL/PUCRS, já havia aplicado este exame em um estudo anterior (Figueiredo e cols 2007), o aprendizado e o desenvolvimento da técnica me foram facilitados. A partir daí, desenvolvi a técnica com um coeficiente de variação intra-ensaio menor que 10%, e então levamos adiante a idéia de utilizar este teste para avaliar risco de pré-eclâmpsia em gestantes.

Com o intuito inicial de predizer pré-eclampsia através do método, verificamos que o tamanho amostral para este tipo de estudo deveria ser muito grande. Tendo em vista que a prevalência de toxemia em nossa população é em torno de 5%, necessitaríamos um tempo de coleta inviável para o período de mestrado; optamos por estudar a DMF naquelas pacientes já com síndrome de pré-eclampsia instalada.

Revisando a literatura, verificamos que, embora existam estudos de DMF na gestação e na síndrome de pré-eclampsia, não encontramos trabalhos diferenciando as duas condições

componentes desta síndrome - PE e PES. Assim resolvemos tentar diferenciar estas duas condições através da DMF. Este passo contribui muito para o entendimento e tratamento da patologia, assim como torna viável um projeto de mestrado e a implantação da técnica no Serviço de Obstetrícia HSL/PUCR. Estas etapas foram vistas como essenciais para que futuramente, ainda se possa verificar se este método terá valor como preditor de PE.

A resposta a esta pergunta é um dos pontos que nos fez acreditar e incentivou o investimento neste estudo. Assim, deu-se o início de uma Linha de Pesquisa dentro do Serviço de Obstetrícia (HSL – PUCRS), a partir de um braço da Linha de Pesquisa Hipertensão na Gestação, conduzida pelo Serviço de Nefrologia (HSL – PUCRS).

Com o objetivo final voltado à publicação de nossos resultados, trabalhamos, durante o desenvolvimento de nossa pesquisa, com a redação de artigos científicos relacionados ao tema em questão. Três artigos foram escritos e optamos pela confecção da dissertação editando os mesmos. Um deles é uma revisão da literatura relacionada à DMF e a gestação. Este artigo compõe nosso capítulo número 1, foi redigido de acordo com as normas solicitadas pela Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (RBGO) e está sendo submetido para apreciação da mesma.

O segundo capítulo da dissertação diz respeito aos resultados e está escrito em formato de um artigo original. Esta versão está submetida no Arquivos Brasileiros de Cardiologia, atualmente pertencente à plataforma eletrônica de consultas Medline.

O terceiro artigo foi publicado na edição de 2008 da ACTA MEDICA/PUCRS, referindo-se especificamente à DMF e à pré-eclampsia (Barreiro e cols, 2008).

A idéia é prosseguirmos este trabalho durante o doutorado, incluindo algumas dosagens plasmáticas de citocinas implicadas na resposta vascular.

CAPÍTULO 1 – ARTIGO DE REVISÃO

Título: Dilatação mediada por fluxo da artéria braquial na gestação: Visão atual e perspectivas

Title: Flow mediated dilation of the brachial artery in pregnancy: Current aspects and perspectives

Autores:

Edson Vieira da Cunha Filho - Serviço de Obstetrícia do Hospital São Lucas da PUCRS.
Mestrando em Medicina e Ciências da Saúde na PUCRS.

Wellington Martins –Professor da Escola de Ultra-sonografia e Reciclagem Médica de Ribeirão Preto (EURP).

Breno José Acauan Filho – Professor da Faculdade de Medicina da PUCRS.

Carlos Eduardo Poli de Figueiredo – Professor da Faculdade de Medicina da PUCRS/IPB/HSL,
Pesquisador CNPq..

Bartira Ercilia Pinheiro da Costa – Professor da Faculdade de Medicina da PUCRS/IPB/HSL.

Instituição onde o trabalho foi desenvolvido:

Hospital São Lucas da PUCRS

Autor responsável pela correspondência:

Edson Vieira da Cunha Filho

Av. Getúlio Vargas, 1271 – apto 604 - A. CEP: 90150-005

Fone: (51) 3231-2771 / 9701-3792 / 3320-5192

email: evcunhafilho@yahoo.com.br

RESUMO

A função endotelial é um importante fator na patogênese de diversas alterações, como aterosclerose, hipertensão, doença coronariana, entre outras. Fisiologicamente, a gestação mostra-se, entre outras características, como um estado de adaptação da função endotelial, a fim de permitir que os eventos vasculares promovidos pelo estado gestacional ocorram de maneira adequada. Por todos estes motivos, a função endotelial tem sido alvo de inúmeras pesquisas e, devido a sua importância, torna-se imperativo que existam formas simples, reprodutíveis e não-invasivas de acessá-la. Neste contexto é que se situa a dilatação mediada por fluxo da artéria braquial (DMF), uma técnica ultra-sonográfica de simples execução, que permite a avaliação da função endotelial vascular, de forma não-invasiva e fidedigna. Entender os mecanismos adaptativos implicados na gravidez humana, especialmente da resposta vascular, é um passo muito importante para a solução de um de seus problemas mais frequentes, a pré-eclâmpsia. O presente estudo é uma revisão sistematizada e atual da literatura que se propõe a analisar como esta técnica pode ser utilizada neste período da vida mulher, e quais os seus reais benefícios.

Palavras-chave: Ultra-sonografia, endotélio, vaso-dilatação, pré-eclâmpsia, artéria braquial.

ABSTRACT

Endothelial function is an important factor in the pathogenesis of many diseases, such as atherosclerosis, hypertension, coronary obstruction, and others. Physiologically, pregnancy promotes an endothelial function adaptation to allow all necessary vascular events to occur properly during pregnancy. Endothelial function has been the objective of many researchers and, due to its importance, the development of simple, reproducible and non-invasive forms assessment is imperative. In this context, flow-mediated dilation of the brachial artery (FMD), an ultrasonographic technique, is simple, non-invasive and reliable technique for the evaluation of vascular endothelial function. Understanding the vascular adaptive mechanisms implicated in human pregnancy, may be an important step to find the solution to one of the most frightening obstetric problems, preeclampsia. The present study is a review of the literature aiming to analyze how this technique can be used during pregnancy and what are its potential roles.

Key Words: Ultrasonography, endothelium, vasodilatation, pre-eclampsia, brachial artery

O endotélio vascular

O endotélio vascular é um tecido ativo, um órgão complexo com inúmeras propriedades autócrinas, parácrinas e endócrinas. Antigamente reconhecido como uma mera barreira física entre a parede do vaso e o sistema sanguíneo, hoje é aceito como órgão que participa de processos como: homeostase vascular (mecanismos endógenos anticoagulantes e pró-fibrinolíticos), regulação do tônus vasomotor (produz substâncias vasorreguladoras de uma forma ordenada e alterações nessa condição endotelial podem promover algumas doenças vasculares e situações como vasoespasmo e hipertensão), crescimento celular e inflamação (quando ativado, o endotélio disfuncional expressa moléculas de adesão e substâncias quimiotáticas que promovem o recrutamento e a migração dos leucócitos para a parede vascular) (Mombouli & Vanhoutte, 1999; Sader & Celermajer, 2002).

Fisiologicamente, o endotélio funciona como potente vasodilatador e age como inibidor da adesão leucocitária, do crescimento de células musculares lisas (SMC) e da agregação plaquetária. Estas funções são exercidas através da produção de diversas moléculas biologicamente ativas, entre as quais se destaca o óxido nítrico (NO), envolvido em várias destas funções endoteliais. O NO é produto da via L-arginina-óxido nítrico endotelial. A enzima constitutiva óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) é ativada pela entrada de cálcio na célula endotelial, degradando o aminoácido L-arginina em L-citrulina e óxido nítrico. Outros estímulos como hipóxia, acetilcolina, bradicinina, serotonina, tensão de cisalhamento (ou *shear stress*) e resposta inflamatória também podem participar da formação de óxido nítrico. Como três isoformas da eNOS têm sido identificadas, outros gatilhos podem contribuir para a liberação de NO, entre os quais se destacam os níveis intracelulares de cálcio, citocinas e endotoxinas bacterianas (função na resposta imune). O NO causa vasodilatação e inibe a liberação de fatores

vasoconstritores, a proliferação de células musculares lisas, o recrutamento e diferenciação de células inflamatórias, a adesão leucocitária e a agregação plaquetária (Moncada & Higgs, 2006).

A disfunção endotelial refere-se à alteração nas propriedades vasoativa, anticoagulante e antiinflamatória, permitindo também um crescimento vascular desordenado, todos resultantes da perda da bioatividade do NO no endotélio. O desbalanço do NO pode ser causado por: diminuição da expressão de eNOS, insuficiência de substrato (L-arginina) ou de cofatores para a eNOS (ou até mesmo pela presença de antagonistas como dimetil arginina assimétrica), ativação diminuída de eNOS, aumento na taxa de degradação do NO. A disfunção endotelial geralmente aumenta a resposta vasoconstritora, a proliferação e a migração das células do músculo liso vascular, a adesão plaquetária e leucocitária e a expressão de moléculas de adesão. Com isto, a perda da integridade funcional do endotélio está associada com a maioria dos fatores de risco para alterações cardiovasculares, como a hipertensão arterial, a aterosclerose, a dislipidemia, o diabetes, entre outros (Moncada & Higgs, 1993).

O endotélio na gestação

A gestação está associada com profundas mudanças hemodinâmicas. A resistência vascular sistêmica permanece baixa durante a gestação e a pressão arterial mostra uma progressiva diminuição no primeiro e segundo trimestres, enquanto que o débito cardíaco e a frequência cardíaca gradualmente aumentam até um platô no fim do segundo trimestre (Cugini e cols, 1992; Dorup e cols, 1999).

Estudos sugerem que o NO desempenha um papel importante na gestação e está associado à queda na resistência vascular sistêmica (Palmer e cols, 1987). Na gravidez normal a produção de óxido nítrico está elevada, particularmente após a sua primeira metade, sugerindo papel dessa

substância vasodilatadora produzida pelo endotélio nas adaptações cardiovasculares da gestação humana (Goodman e cols, 2003).

A toxemia gravídica

A toxemia gravídica, ou pré-eclâmpsia, é uma das doenças mais importantes em Obstetrícia. Incide em cerca de 8% das primigestas, sendo a maior causa de mortalidade materna e perinatal. Na vigência de toxemia, a mortalidade perinatal está aumentada em cinco vezes, e 40% dos partos pré-termo iatrogênicos são dela decorrentes, assim como, 25% dos recém-nascidos de muito baixo-peso (< 1500g) (Gifford, 2000).

Em relação à fisiopatologia da pré-eclâmpsia, está clara a idéia de que a placenta seja pré-requisito para o desenvolvimento da síndrome, pois a cura depende da retirada deste órgão. A hipótese é de que a placenta em hipóxia seja o lugar de origem de certas substâncias tóxicas que determinam as manifestações maternas da doença (Dekker & Sibai, 2001, Levine e cols 2004 e 2006).

A pré-eclâmpsia é hoje considerada doença de dois estágios. Na gravidez normal há diminuição da resistência das artérias espiraladas no miométrio e na decídua materna, decorrente da invasão do trofoblasto extraviloso nas artérias espiraladas, o que desestrutura a musculatura lisa vascular com conseqüente dilatação dos vasos. A redução da resistência vascular, por sua vez, resulta em aumento da perfusão da placenta. Esse processo está completo em torno da 26ª semana de gestação. Contrário à gravidez normal, essa transformação é aberrante na pré-eclâmpsia, deixando a circulação uteroplacentária em regime de alta-resistência, o que corresponde ao estágio 1 da doença (Mombouli & Vanhoutte, 1999; Roberts & Gammill, 2005; Roberts & Hubel, 2009).

O segundo estágio envolve a resposta materna com a ativação dos sistemas inflamatórios e a disfunção da célula endotelial. Embora a base para essa resposta seja multifatorial, importantes desequilíbrios bioquímicos têm sido propostos para explicá-la. O tromboxano A₂ (TXA₂) é vasoconstritor potente, que estimula a agregação plaquetária e a contração uterina, e por isso reduz o fluxo sanguíneo uteroplacentário. Ao contrário do tromboxano, a prostaciclina (PGI₂) é vasodilatador potente, que inibe a agregação plaquetária e a contratilidade uterina, promovendo aumento no fluxo uteroplacentário. Em condições normais, na gravidez, a produção de prostaciclina é favorecida. Todavia, a produção de TXA₂ é privilegiada na gravidez toxêmica, promovendo uma redução na perfusão placentária. De outra forma, tem sido estabelecido que placentas pré-eclâmpicas produzem significativamente mais lipídios peróxidos do que placentas normais. TXA₂ e lipídios peróxidos são produzidos pelas células trofoblásticas e, propõe-se também, que estes lipídios peróxidos possam ser toxinas placentárias liberadas na circulação materna, provocando a doença (Mombouli & Vanhoutte, 1999; Roberts & Hubel, 2009; Chambers e cols, 2001).

Outro conceito também tem sido implicado na gênese da pré-eclampsia. Mulheres com pré-eclampsia têm comprometimento no equilíbrio, na homeostase de agentes oxidantes (a própria gestação já é um evento oxidativo) e antioxidantes (Conors & Merrill, 2004). Isto é conhecido como estresse oxidativo. Na toxemia, o sistema oxidante-antioxidante está desregulado com predomínio do estresse oxidativo sobre a capacidade antioxidante. Isto ocorre mais provavelmente no segundo e terceiro trimestre quando a placenta cresce em nível acelerado (Fenster e cols, 2003). De modo que qualquer que seja a circunstância capaz de conduzir um aumento do estresse oxidativo, a disfunção endotelial é o principal efeito. Paralelamente, a constatação de endoteliose capilar glomerular foi, durante muito tempo, considerada patognomônica da toxemia gravídica e esse evento confirma a disfunção endotelial. Artérias, na

mulher pré-eclâmpica, têm maior reatividade e menor dilatação, fatos que advém da alteração de varias moléculas, entre elas a produção diminuída de NO. Substâncias que estão associadas à disfunção endotelial, como VCAM-1 e fibronectina, estão elevadas no plasma de pré-eclâmpicas (Chavarría, 2002).

O entendimento da síndrome de pré-eclâmpsia tem avançado também pela descrição de fatores angiogênicos circulantes relacionados a risco. Receptores placentários solúveis tirosina quinase 1 fms-simile (do inglês: soluble fms-like tyrosine kinase ou sFlt, fator antagonista do fator de crescimento vascular endotelial) são frações circulantes de receptores da membrana celular, que na circulação antagonizam os efeitos dos fatores angiogênicos VEGF (do inglês: *vascular endothelial growth factor*) e do fator de crescimento placentário (Maynard e cols, 2003). Na pré-eclâmpsia foi descrito excesso de sFlt, e níveis circulantes elevados estavam associados à severidade da pré-eclâmpsia (Maynard e cols, 2003). Presume-se que a isquemia placentária levaria a hipóxia e produção placentária de sFlt na circulação, levando a redução dos fatores VEGF e PlGF (do inglês: *placenta growth factor*) circulantes, e conseqüentemente disfunção endotelial (Luft 2006; Maynard e cols, 2003; Levine e cols 2004, Aggarwal e cols, 2006; Lindheimer & Umans, 2006). Tem sido sugerido que este fator está aumentado na pré-eclâmpsia, mesmo antes da apresentação clínica, podendo vir a ser um marcador do risco para esta patologia (Levine e cols 2004). Verificou-se também que a endoglina solúvel, um co-receptor solúvel para o fator de crescimento de transformação beta 1 (TGF beta1), outro fator anti-angiogênico circulante está aumentado na gestação (Levine e cols, 2006, Lindheimer & Umans 2006), e sua interação com sFlt acarretaria em desenvolvimento da síndrome Hellp (Venkatesha e cols, 2006). Assim, são crescentes as evidências que associam fatores angiogênicos com fenótipos da pré-eclâmpsia (Widmer e cols, 2007; Lindheimer & Umans 2006).

Finalmente, as evidências apresentadas referentes ao papel crucial do endotélio, tanto na gestação normal como na pré-eclampsia, sugerem que a avaliação da função vascular nestas pacientes pode contribuir muito para o entendimento da fisiopatogenia e acompanhamento clínico desta patologia.

O estudo da função endotelial pela DMF

A função endotelial tem sido avaliada na literatura por uma variedade de métodos (Faulx e cols, 2003). O método não-invasivo mais utilizado para a avaliação da função arterial é a ultrasonografia da artéria braquial. Esta técnica (dilatação mediada por fluxo - DMF) foi descrita inicialmente por Anderson e Mark, em 1989, e trabalhos da década de 90 já mostraram, por exemplo, a correlação forte entre a DMF das artérias coronárias e braquial (Anderson e Mark, 1989).

A DMF é designada como um processo endotélio-dependente que reflete o relaxamento de um conduto arterial quando exposto a um aumento no fluxo sanguíneo e, conseqüentemente, a tensão de cisalhamento aumentada. Quando o fluxo de sangue aumenta em um vaso, o mesmo dilata. Medidas de DMF diminuídas refletem disfunção endotelial (Moens e cols, 2005). Em artérias periféricas, um aumento temporário na tensão de cisalhamento, pode ser produzido pela elevação do fluxo sanguíneo local. Isto é conhecido como hiperemia reativa. A hiperemia reativa pode ser induzida inflando-se um manguito pneumático ao redor do braço ou antebraço, e desinsuflando após 5 minutos. Este procedimento dificulta o fluxo arterial, resultando na diminuição abrupta da resistência vascular. Após 60 a 90 segundos da desinsuflação, o diâmetro arterial é medido para determinar o máximo diâmetro pós-hiperemia. A DMF é expressa como a variação absoluta ou relativa no diâmetro, a partir da medida do diâmetro basal (Faulx e cols, 2003; Moens e cols, 2005).

A tensão de cisalhamento é principalmente determinada pelo fluxo sanguíneo e funciona como uma força exercida em um vetor perpendicular ao eixo longo do vaso. O endotélio atua como um mecano-transdutor que capta as variações na tensão de cisalhamento e subsequentemente modifica a liberação de fatores dilatadores (Sader e Celermajer, 2002). Tem sido demonstrado que a DMF é, predominantemente, dependente do NO derivado do endotélio. A membrana celular endotelial contém canais iônicos especializados, como canais de potássio, que se abrem em resposta à tensão de cisalhamento. O efeito do canal de potássio aberto é hiperpolarizar a célula endotelial, aumentando a força para a entrada de cálcio. O cálcio ativa a eNOS e a consequente geração de NO se reflete na DMF (Moncada & Higgs, 1993). O mecanismo da dilatação mediada por fluxo é dependente do NO e da integridade funcional do endotélio, e visa restabelecer a homeostase do fluxo. A ultra-sonografia da artéria braquial consegue determinar a mudança do diâmetro da artéria em resposta ao aumento de fluxo por hiperemia reativa, decorrente da oclusão arterial (Faulx e cols, 2003).

Técnica da DMF

A DMF da artéria braquial é uma técnica ultra-sonográfica que consiste na aferição do diâmetro arterial basal adquirido através das imagens obtidas pelo ultra-som, e sua relação com o diâmetro arterial após hiperemia reativa provocada pela oclusão vascular através da insuflação de um manguito de esfigmomanômetro. A relação entre os dois diâmetros nos fornece uma porcentagem de variação. Artérias saudáveis, tipicamente mostram um aumento no diâmetro que varia de 5% a 15%. O fluxo na artéria braquial, geralmente aumenta 5 a 6 vezes. Em pacientes com dano endotelial, a resposta vasodilatatória é diminuída e, em alguns pacientes, até vasoconstrição é observada. Acreditamos que os valores normais da DMF sejam aqueles superiores a 8-10% (Dorup 1999; Quyyumi, 2003).

Algumas variações e adaptações na técnica têm sido descritas desde as primeiras pesquisas científicas de Celermajer e cols em 1992. Estas variações incluem a posição do manguito (antebraço ou braço), pressão do manguito inflado, tempo para medição do diâmetro da artéria pós-oclusão, uso do ECG simultâneo ou da análise com Doppler pulsado (Celermajer e cols, 1992; Regattieri e cols, 2006).

A DMF e a gestação na atualidade

Devido a sua praticidade e aplicabilidade, a DMF vem despertando o interesse de pesquisadores nas mais diferentes áreas em que o teste possa ter utilidade. Atualmente, embora ainda seja muito pouco utilizada, alguns estudos têm sido desenvolvidos objetivando o acesso da função endotelial na gestação.

Partindo do princípio de que pré-eclampsia cursa com disfunção endotelial, Savvidou e colaboradores, testaram a hipótese de que a disfunção endotelial, juntamente com concentrações séricas de dimetilarginina assimétrica (ADMA – um inibidor endógeno da óxido nítrico sintase endotelial), precede e contribui para o desenvolvimento da pré-eclampsia (Savvidou e cols, 2003). De 86 gestantes estudadas, 10 desenvolveram toxemia gravídica. Destas, todas apresentaram valores de DMF menores que os daquelas com desfecho gestacional favorável ($p < 0,0001$) e, todas as pacientes que demonstraram ter perfusão placentária comprometida (através do formato das ondas das artérias uterinas ao mapeamento com Doppler), apresentaram níveis séricos significativamente maiores de ADMA, comparadas àquelas gestantes com Doppler de artérias uterinas normal. Assim, os autores sugerem que a função endotelial das gestantes que desenvolvem pré-eclampsia é comprometida e isto ocorre antes do desenvolvimento da síndrome clínica. Além disso, constatam também, que mulheres com alta resistência na circulação

placentária, têm concentrações séricas de ADMA aumentadas, o que se torna um fator potencial para o desenvolvimento da doença (Savvidou e cols, 2003).

Ao comparar amostras de artérias oriundas de biópsia de miométrio de pacientes que foram submetidas à cesariana de urgência por pré-eclampsia com amostras oriundas de pacientes hípidas submetidas à cesariana eletiva, e suas respostas na presença ou não de óxido nítrico foi verificado, por Kublickiene e colaboradores que a diminuição na tensão de cisalhamento nas artérias miometriais de gestantes toxêmicas pode contribuir para a redução do fluxo sanguíneo uteroplacentário observado nesta doença (Kublickiene e cols, 2000).

Veille e colaboradores, em 1998, tentando determinar se mulheres que desenvolvem pré-eclampsia têm valores de DMF diferentes de gestantes hípidas, acompanharam 33 gestantes a partir da segunda metade da gestação, e concluíram que houve uma significativa diferença na hiperemia reativa da artéria braquial entre as gestantes normotensas e àquelas que desenvolveram pré-eclampsia (Veille e cols, 1998).

A DMF medida em 43 gestantes, na segunda metade da gestação foi realizada por Takase e cols, 2003. Os valores foram analisados junto dos fatores de risco tradicionais e a análise Doppler das artérias uterinas na predição da pré-eclampsia. Somente a DMF apresentou diferença significativa quando foram comparados os grupos de gestantes toxêmicas e normotensas. Se um ponto de corte de 3,0% fosse estabelecido, o valor preditivo positivo da DMF seria de 90% e o negativo seria 100%. Desta forma, os autores concluíram que a DMF pode ser uma simples e não-invasiva modalidade para predizer pré-eclâmpsia (Takase e cols, 2003).

Para avaliar o efeito da gravidez na função endotelial medida pela DMF, Sierra-Laguado e cols (2006), fizeram uma coorte com 492 gestantes normotensas de março de 2001 a março de 2005 (Sierra-Laguado e cols, 2006). Entre outros dados, observaram um progressivo e significativo aumento no diâmetro basal da artéria braquial durante a gestação, com um aumento

de 10% no diâmetro arterial no último trimestre, quando comparado com não-gestantes. Além disso, concluíram também, que os valores de DMF aumentaram durante a gestação, iniciando a partir do primeiro trimestre, chegando ao maior valor no terceiro trimestre. Assim, os autores acreditam que a DMF possa ser uma ferramenta importante para avaliação endotelial em gestações complicadas, por exemplo, por pré-eclâmpsia (Sierra-Laguado e cols, 2006).

Em estudo prévio, Dorup e colaboradores, compararam, através da DMF, a função endotelial de 71 gestantes híginas com a de 37 não-gestantes. Comparados com os controles, a DMF e o diâmetro da artéria braquial foram significativamente maiores durante o segundo e o terceiro trimestres de gestação (Dorup e cols, 1999).

Saarelainen e colaboradores investigaram se a hiperlipidemia característica da gestação estaria associada com alteração na função endotelial. Neste estudo foi confirmado um marcado incremento no perfil lipídico durante a gestação. A análise dos dados revelou que esse aumento não traz efeitos adversos para a função endotelial, sugerindo que a hiperlipidemia gravídica, principalmente com o aumento do HDL-colesterol, não é nociva ao endotélio, podendo exercer certo efeito protetor pela inibição da oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) (Saarelainen e cols, 2006).

Estágios pré-diabéticos, como diabetes gestacional, podem ser uma das condições associadas à disfunção endotelial e possível aumento no risco de aterogênese. Partindo do princípio de que um passado gestacional de diabetes possa interferir na função endotelial, Anastasiou e colaboradores desenvolveram um estudo comparando a função endotelial, através da DMF, de 33 mulheres com história prévia de diabetes gestacional, com 19 mulheres híginas. A DMF foi significativamente menor naquelas mulheres com diabetes gestacional prévia (Anastasiou e cols, 1999).

Considera-se que a disfunção endotelial esteja envolvida com muitas das manifestações da pré-eclâmpsia, incluindo proteinúria, hipertensão e edema. Muito difundido, é também, o conceito de que a inadequada invasão trofoblástica das artérias uterinas espiraladas leva à isquemia placentária e libera fatores placentários que danificam o endotélio vascular materno. Entretanto, a maioria dos estudos sobre pré-eclâmpsia têm sido conduzidos durante a gestação, e assim, torna-se difícil separar os mecanismos maternos ou placentários envolvidos no desenvolvimento da pré-eclâmpsia (Chambers e cols, 2001).

Tentando evitar esta questão apresentada acima, Chambers e colaboradores (2001), mediram a resposta vascular de mulheres com história prévia de pré-eclâmpsia 3 anos após o parto, a fim de verificar o quanto a função endotelial está diminuída em mulheres toxêmicas na ausência da placenta. Observaram que a DMF foi menor em mulheres com história de pré-eclâmpsia, quando comparadas com controles hígidos. Além disso, concluíram que o passado de pré-eclâmpsia diminui a função endotelial, e também que a recorrência é mais prejudicial ao endotélio (DMF grupo recorrente 0,9%, DMF grupo único episódio 2,7% e DMF grupo controle = 4,7%, $p < 0,001$).

Crescentes evidências sugerem que a disfunção endotelial na pré-eclâmpsia é mediada por estresse oxidativo (Chappell e cols, 1999). Recentes estudos mostram que vitaminas antioxidantes melhoram os marcadores bioquímicos de ativação endotelial e reduzem a incidência de pré-eclâmpsia em mulheres de alto risco. A observação de que a peroxidação lipídica e formação de peroxinitrato estão aumentadas nas placentas de gestantes toxêmicas tem levado à hipótese de que a placenta é a principal fonte de estresse oxidativo. No estudo de Chambers, foi observado que as medições da DMF diminuídas nas pré-eclâmplicas, normalizam com o uso de ácido ascórbico (Chambers e cols, 2001).

Atualmente, tem sido descrito a associação do polimorfismo Glu298Asp da eNOS com o desenvolvimento da patogênese de certas desordens, como hipertensão, aterosclerose e pré-eclampsia (Savvidou e cols, 2001; Yoshimura e cols, 2000). A variante Asp298 tem demonstrado ser suscetível à clivagem proteolítica aumentada, e isto pode contribuir para a geração anormalmente diminuída de NO nos carreadores deste alelo. Savvidou e colaboradores examinaram a relação entre DMF e o genótipo da eNOS em 139 gestantes no primeiro trimestre da gravidez. De acordo com o genótipo da eNOS, as integrantes do estudo foram divididas em 3 grupos: Homozigotas Glu (61 gestantes), heterozigotas (Glu/Asp, 68 gestantes) e homozigotas Asp (10 gestantes). A DMF materna apresentou uma relação inversa com o número de alelos Asp. Tanto a DMF de homozigotas Asp quanto a de heterozigotas (Glu/Asp), foi significativamente menor que a das homozigotas Glu. Assim, os autores concluem que um polimorfismo no gene Glu298Asp da eNOS pode ter uma conseqüência funcional no endotélio, e durante uma gestação normal, a magnitude da resposta vasodilatatória ao estímulo do fluxo sanguíneo é relacionada a este polimorfismo. Estes achados implicam num importante papel para os fatores genéticos na determinação da adaptação vascular na gestação (Savvidou e cols, 2001).

Conclusão

A função endotelial tem sido objeto de estudo de pesquisadores há muito tempo. O acesso ao endotélio, porém, tem-se dado principalmente de formas invasivas, o que limita muito as pesquisas neste campo. A ultra-sonografia, entretanto, uma metodologia de fácil aplicabilidade, tem possibilitado a investigação da função endotelial de uma forma simples, fácil, fidedigna e não-invasiva. Desta forma, acreditamos que a DMF possa ser uma grande ferramenta de uso durante a gestação (estado de grande adaptação endotelial), principalmente no que diz respeito à predição de toxemia gravídica. Diante do futuro promissor relacionado a este teste, esforços para

o aperfeiçoamento da técnica devem ser dedicados, a fim de que possamos usá-la em mais larga escala durante a gravidez.

Referências bibliográficas:

- 1 - Mombouli JV, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31(1):61-74.
- 2 - Sader MA, Celermajer DS. Endothelial function, vascular reactivity and gender differences in the cardiovascular system. *Cardiov Res* 2002;53(3):597-604.
- 3 - Moncada S, Higgs EA. Nitric oxide and the vascular endothelium. *Handb Exp Pharmacol* 2006; (175 Pt 1):213-54.
- 4 - Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329(27):2002-12.
- 5 - Cugini P, Di Palma L, Battisti P, Leone G, Pachí A, Paesano R, Masella C, Stirati G, Pierucci A, Rocca AR, et al. Describing and interpreting 24-hour blood pressure patterns in physiologic pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1992;166(1 Pt 1):54-60.
- 6 - Dorup I, Skajaa K & Sorensen KE. Normal pregnancy is associated with enhanced endothelium-dependent flow-mediated vasodilation. *Am J Physiol* 1999;276(3 Pt 2):H821-5.
- 7 - Palmer, RM; Ferrige, AG & Moncada, S. Nitric oxide release accounts for biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 327: 524-526, 1987.
- 8 - Goodman LA, Saade GR, Belfort MA, Moise Jr. KJ, Jahoor F. Arginine flux and nitric oxide production during human pregnancy and postpartum. *J Soc Gynecol Investig* 2003;10(7):400-5.
- 9 - Gifford RW, 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.
- 10 - Dekker G, Sibai B. Primary, secondary, and tertiary prevention of pre-eclampsia. *Lancet* 2001;357(9267):1534.

- 11 - Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004; 350:672-683.
- 12 - Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, Sibai BM, Epstein FH, Romero R, Thadhani R, Karumanchi SA. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006; 355:992-1005.
- 13 - Roberts JM, Gammill HS. Preeclampsia: recent insights. *Hypertension* 2005; 46(6):1243-9.
- 14 - Roberts JM, Hubel CA. The Two Stage Model of Preeclampsia: Variations on the Theme. *Placenta* 2009; Dec 12 [in print].
- 15 - Chambers JC, Fusi L, Malik IS, Haskard DO, Swiet M, Kooner JS. Association of maternal endothelial dysfunction with preeclampsia. *JAMA* 2001;285(12):1607-12.
- 16 - Connors N, Merrill D. Antioxidants for prevention of preterm delivery. *Clin Obstet Gynecol* 2004;47(4):822-32.
- 17 - Fenster BE, Tsao OS, Rockson, SG. Endothelial dysfunction: clinical strategies for treating oxidant stress. *Am Heart J* 2003;146(2):218-26. Cockell AP, Poston L. Flow-mediated vasodilatation is enhanced in normal pregnancy but reduced in preeclampsia. *Hypertension* 1997;30(2 Pt 1):247-51.
- 18 - Chavarría ME, Lara-González L, González-Gleason A, Sojo I, Reyes A. Maternal plasma cellular fibronectin concentrations in normal and preeclamptic pregnancies: a longitudinal study for early prediction of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187(3):595-601.
- 19 - Maynard SE, Min JY, Merchan J, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest.* 2003;111(5):649-58.

- 20 - Luft FC. Soluble endoglin (sEng) joins the soluble fms-like tyrosine kinase (sFlt)receptor as a pre-eclampsia molecule. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21(11):3052-4.
- 21 - Aggarwal PK, Jain V, Sakhuja V, et al. Low urinary placental growth factor is a marker of pre-eclampsia. *Kidney Int*. 2006;69(3):621-4.
- 22 - Lindheimer MD, Umans JG. Explaining and predicting preeclampsia. *N Engl J Med*. 2006;355(10):1056-8.
- 23 - Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med*. 2006;12(6):642-9.
- 24 - Widmer M, Villar J, Benigni A, et al. Mapping the theories of preeclampsia and the role of angiogenic factors: a systematic review. *Obstet Gynecol*. 2007;109(1):168-80.
- 25 - Faulx MD, Wright AT, Hoit BD. Detection of endothelial dysfunction with brachial artery ultrasound scanning. *Am Heart J*. 2003;145(6):943-51.
- 26 - Anderson EA, Mark AL. Flow-mediated and reflex changes in large peripheral artery tone in humans. *Circulation* 1989; 79: 93-100.
- 27 - Moens AL, Goovaerts I, Claeys MJ, Vrints CJ. Flow-mediated vasodilation: a diagnostic instrument, or an experimental tool? *CHEST* 2005;127(6):2254-2263.
- 28 - Quyyumi AA. Prognostic value of endothelial function. *Am J Cardiol* 2003;91(suppl):19H-24H.
- 29 - Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield, JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340(8828):1111-5.
- 30 - Regattieri NAT, Leite SP, Koch HA, Montenegro CAB. Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial: Desenvolvimento da técnica, estudo em pacientes de risco para aterosclerose e em um grupo controle. *Revista Brasileira de Ultra-sonografia*. 2006;9:9-13.

- 31 - Savvidou MD, Hingorani AD, Tsikas D, Frolich JC, Vallance P, Nicolaides KH. Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Lancet* 2003;361(9368):1511-7.
- 32 - Kublickiene KR, Lindblom B, Kruger K, Nisell H. Preeclampsia: evidence for impaired shear stress-mediated nitric oxide release in uterine circulation. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(1):160-6.
- 33 - Veille JC, Gorsuch L, Weeks W, Zaccaro D. Hyperemic response of the brachial artery during the second half of pregnancy. *J Soc Gynecol Investig.* 1998;5(1):38-43.
- 34 - Takase B, Gotto T, Hamabe A, Uehata A, Kuroda K, Sattomura K, Ohsuzu F, Kurita A. Flow-mediated dilation in brachial artery in the second half of pregnancy and prediction of pre-eclampsia. *J Hum Hypertens.* 2003;17(10):697-704.
- 35 - Sierra-Laguado J, Garcia RG, Lopez-Jaramillo P. Flow-mediated dilatation of the brachial artery in pregnancy. *International Journal of Gynecology and Obstetrics.* 2006;93(1):60-61.
- 36 - Saarelainen H, Laitinen T, Raitakari OT, Juonala M, Heiskanen N, Lyyra-Laitiene T, Viikari JSA, Vanninen , Heinonen S. Pregnancy-related hyperlipidemia and endothelial function in healthy women. *Circulation Journal* 2006;70(6):768-72.
- 37 - Anastasiou E, Lekakis JP, Alevizaki M, Papamichael CM, Megas J, Souvatzoglou A, Stamatelopoulos SF. Impaired endothelium-dependent vasodilatation in women with previous gestational diabetes. *Diabetes Care.* 1999;21(12):2111-15.
- 38 - Chappell LC, Seed PT, Briley AL, et al. Effect of antioxidants on the occurrence of pre-eclampsia in women at increased risk: a randomised trial. *Lancet.* 1999;354(9181):810-816.
- 39 - Savvidou MD, Vallance PJT, Nicolaides KH, Hingorani AD. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and maternal vascular adaptation to pregnancy. *Hypertension* 2001;38(6):1289-93.

40 - Yoshimura T, Yoshimura M, Tabata A, et al. Association of the missense Glu298Asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with severe preeclampsia. *J Soc Gynecol Investig.* 2000; 7(4):238-41.

CAPÍTULO 2 – ARTIGO ORIGINAL

Título: Dilatação mediada por fluxo no diagnóstico diferencial da síndrome de pré-eclâmpsia

Título condensado: Dilatação Mediada por Fluxo na pré-eclâmpsia

Título em inglês: Preeclampsia and superimposed preeclampsia - differentiation through Flow Mediated Dilatation test

Autores: Edson Vieira da Cunha Filho, MD, Carolina Mohr, Breno José Acauan Filho, MD, Giovani Gadonski, MD, PhD, Letícia Germany Paula, MD, Ivan Carlos Ferreira Antonello, MD, PhD, Carlos Eduardo Poli-de-Figueiredo, MD, PhD, Bartira Ercilia Pinheiro da Costa, MSc, PhD.

Programa de Pós-graduação em Medicina e Ciências da Saúde (Nefrologia), Instituto de Pesquisas Biomédicas/Faculdade de Medicina/Hospital São Lucas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Brazil.

Autor para correspondência

No reprints requested

Edson Vieira da Cunha Filho

Rua Vasco da Gama, 51 – apto 1203.

90420-111 Porto Alegre, RS, Brazil

Phone: +55-51-3311-8108 or 9701-3792 or 3320-5192

e-mail: evcunhafilho@yahoo.com.br

Summary

Study basis: Preeclampsia syndrome is associated with endothelial dysfunction, and the differential diagnosis between pure preeclampsia and superimposed preeclampsia can only be made retrospectively 12 weeks postpartum.

Objectives: Evaluate endothelial function with flow-mediated dilation to detect possible differences between preeclampsia and superimposed preeclampsia.

Methods: Flow-mediated dilation at the brachial artery was performed using the recommendations of the International Brachial Artery Reactivity Task Force in pregnant women with preeclampsia syndrome. Preeclampsia (n=14) and superimposed preeclampsia (n=13) were diagnosed postpartum using the definitions of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy.

Results: Median FMD in PES (6.0%, interquartile range 1.9-10.3) was reduced in comparison to PE (13.6%, IQR 4.4-17.1), an apparently relevant disparity, although not reaching a statistically significant difference (p=0.008). FMD below 10% was detected in 30.8% in PE and 69.2% in PES (p=0.057). No significant differences could be detected in the uterine arteries morphology between PE and PES using spectral Doppler.

Conclusions: Brachial artery FMD is not able to differentiate PE from PES in patients presenting preeclampsia syndrome. PES is associated with worst endothelial function in comparison to PE.

Palavras-chave: ultra-sonografia; endotélio; vasodilatação; pré-eclâmpsia; artéria braquial.

Key words: Ultrasonography, endothelium, vasodilation, pre-eclampsia, brachial artery.

INTRODUÇÃO

A pré-eclampsia, uma das doenças mais deletérias em Obstetrícia, é hoje considerada doença de dois estágios. O primeiro corresponde à placentação insuficiente, acarretando aumento na resistência da circulação uteroplacentária. O segundo envolve a reação materna, através da ativação da resposta inflamatória e disfunção da célula endotelial (Roberts, 2009).

Artérias de pré-eclâmplicas têm maior reatividade e menor dilatação, fatos relacionados à alteração de vias metabólicas, entre elas a do óxido nítrico. Entretanto, a participação deste óxido ainda não está bem estabelecida quanto, por exemplo, à queda dos níveis pressóricos na primeira metade da gestação (Selligman 1994; Langenfeld, 2003). Constatam-se também que substâncias associadas à disfunção endotelial, como fibronectina (Chavarría, 2002) e enzima fosfodiesterase (Pinheiro da Costa, 2006) estão elevadas no plasma de pré-eclâmplicas.

A disfunção endotelial geralmente aumenta a resposta vasoconstritora, a proliferação e a migração das células do músculo liso vascular, a adesão plaquetária e leucocitária e a expressão de moléculas de adesão. Esta perda de integridade funcional do endotélio está associada com fatores de risco para alterações cardiovasculares, como hipertensão arterial, aterosclerose, dislipidemia, diabetes, entre outras (Mombouli, 1999).

Um dos métodos não-invasivos utilizados para avaliação da função arterial é a ultrasonografia (Celermajer, 1992; Faulx, 2003). A dilatação mediada por fluxo (DMF) da artéria braquial é um processo endotélio-dependente, que reflete o relaxamento do conduto arterial como resultado da tensão de cisalhamento aplicada na parede vascular pelo aumento do fluxo sanguíneo. A realização desta medida pressupõe a oclusão intencional da artéria. Valores de DMF aumentados representam função endotelial fisiológica, enquanto medidas diminuídas refletem disfunção endotelial (Dorup e cols, 1999).

Alguns autores utilizam a DMF para avaliar função endotelial de gestantes controles e/ou com patologias, principalmente diabéticas e pré-eclâmplicas, sendo que estas apresentam DMF menor que de grávidas normais (Cockell, 1997). O diagnóstico diferencial de pré-eclampsia pura (PE) e sobreposta à hipertensão essencial (PES) pode ser realizado a partir dos 90 dias pós-parto como na hipertensão gestacional. No presente estudo foi avaliado a DMF de gestantes com síndrome de pré-eclampsia, para verificar se este teste pode detectar diferenças na reatividade endotelial de pacientes com PE e PES.

MÉTODOS

As definições empregadas seguiram a classificação dos distúrbios hipertensivos gestacionais preconizadas pelo Relatório do *National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy* (NHBPEPWGHBPP) (Gifford, 2000) como segue:

Pré-eclâmpsia/eclâmpsia (PE): síndrome específica da gravidez humana, que ocorre após a 20ª semana de gestação e é caracterizada por hipertensão e proteinúria. *Hipertensão* é definida como pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg, e diastólica ≥ 90 mmHg em gestante normotensa antes das 20 semanas de gestação. Proteinúria é definida como patológica quando ultrapassar 300 mg em 24 horas. Proteinúria e pressão arterial devem voltar ao normal até 12 semanas após o parto. A evolução para eclâmpsia caracteriza-se por convulsões nessas pacientes.

Pré-eclâmpsia sobreposta à hipertensão crônica (PES): é o desenvolvimento da síndrome de pré-eclâmpsia em paciente com hipertensão crônica. Este é um diagnóstico difícil, pois a paciente é hipertensa e pode ter proteinúria patológica, exigindo observação cuidadosa. Contudo o

emprego do exame de fundo de olho como expediente de diferenciação, pode auxiliar na detecção de dano em órgão alvo em pacientes com hipertensão crônica.

Estudo de delineamento transversal, prospectivo, composto por 27 pacientes com síndrome de pré-eclâmpsia. As pacientes estavam internadas no Hospital São Lucas da PUCRS para atendimento obstétrico, ou realizavam acompanhamento pré-natal no Serviço de Obstetrícia. Todas as pacientes incluídas assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética da PUCRS. Foram excluídas gestantes com história de trombose venosa e arterial; predisposição conhecida à trombose venosa ou arterial; diabetes mellitus; história de doença hepática grave; história de tumores hepáticos; história de hipertensão crônica; pacientes com proteinúria prévia; usuárias de drogas ou álcool; desacordo em participar do estudo.

Após o diagnóstico de síndrome de pré-eclâmpsia, as pacientes foram submetidas à aferição da DMF da artéria braquial, conforme técnica proposta por Celermajer e cols (1992) e modificada por Regattieri (2006). A medida da DMF foi feita na artéria braquial direita da paciente confortavelmente sentada, com ligeira abdução do braço direito e supinação da mão, a fim de expor a face ântero-medial do braço ao examinador. A sonda linear de 14 MHz do aparelho de ultra-sonografia 2D, com Doppler colorido e espectral (Ultrasonix, Ultrasonix Medical Corporation, Richmond, Canadá) foi colocada na face medial do braço, longitudinal e perpendicularmente à pele, 5 cm acima da prega ante-cubital, insonando-se a artéria braquial diretamente abaixo do bíceps e ao lado do músculo braquial. Observa-se que o transdutor linear vascular de alta-freqüência utilizado permite a identificação de sete zonas, que correspondem às duas interfaces média-adventícia, às duas íntimas, às duas médias e à luz da artéria, sendo esta a melhor maneira de atestar que o transdutor está no centro do vaso e perpendicular a ele (Regattieri, 2006). Na seqüência, o diâmetro da artéria braquial foi medido longitudinalmente, através de imagens nas quais as interfaces luz-íntima proximal e distal são visualizadas. Tomou-

se a medida do diâmetro existente no centro do vaso, no momento correspondente ao final da diástole. Este momento foi monitorizado pelo modo B do ecógrafo, como o momento de menor distensão das paredes do vaso (para evitar calibres vasculares maiores, decorrentes da distensão vascular ocasionada pela sístole), o qual pôde ser corretamente captado retrocedendo a imagem pelo recurso *cine loop* do ecógrafo. Concluída a verificação do diâmetro basal (D1), a pele foi marcada com caneta no local da tomada da medida pelo transdutor. Colocou-se o manguito no mesmo braço ajustando a pressão 20 a 30 mmHg acima da sistólica, mantendo-se esta oclusão por 5 minutos. O diâmetro pós-oclusão (D2) foi medido 60 segundos depois de retirado o manguito, com tolerância de mais 30 segundos, momento de máxima hiperemia reativa. A partir dos mesmos padrões já descritos, realizou-se uma nova mensuração do calibre da artéria braquial. O valor da DMF foi obtido a partir do seguinte cálculo: $DMF(\%) = [(D2 - D1) / D1] \times 100$; onde D1= diâmetro basal e D2= diâmetro pós-oclusão. Os valores de DMF maiores que 10% foram considerados normais segundo Quyyumi (2003).

Não foram impostas medidas restritivas para a realização da medida da DMF, como limitação do horário de exame ou suspensão de medicação hipotensora, devido à gravidade do quadro hipertensivo das pacientes. O examinador foi o mesmo para todas as pacientes. Após a medida da DMF também foi realizado ultra-sonografia para avaliação fetal e para análise com Dopplervelocimetria dos compartimentos materno, placentário e fetal.

As pacientes realizaram também exames laboratoriais de rotina para avaliar a gravidade da síndrome de pré-eclâmpsia, como: proteinúria de 24 horas, ácido úrico, creatinina, hemograma, plaquetas, tempo de trombina, tempo de protrombina, fibrinogênio, desidrogenase láctica, aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase.

Os dados referentes à DMF, clínica da paciente, ecografia obstétrica, Doppler obstétrico, exames laboratoriais, desfecho materno e perinatal foram protocolados em planilha Excel.

Passados 90 dias do puerpério, as pacientes foram encaminhadas ao ambulatório de Nefrologia do Hospital São Lucas da PUCRS e consultaram a fim de concluir o diagnóstico de pré-eclampsia pura ou sobreposta indicado principalmente pela aferição da pressão arterial e proteinúria.

Após diagnóstico final, os dados foram analisados utilizando-se o programa Statistical Package for Social Science para Windows na versão 11.

RESULTADOS:

Os dados demográficos e clínicos estão apresentados na Tabela 1. A amostra de pacientes com síndrome de pré-eclampsia foi dividida em dois grupos: pré-eclampsia pura (PE) e pré-eclampsia sobreposta (PES), ambos com 14 e 13 pacientes, respectivamente. Esta divisão só ocorreu após o diagnóstico final, realizado no ambulatório, no fim do puerpério. A comparação das variáveis idade materna, número de gestações, idade gestacional na internação, peso materno, história prévia de pré-eclâmpsia, peso da placenta no momento do nascimento e índice de resistência ao Doppler das artérias umbilicais mostrou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos.

Quanto à DMF, sua mediana nas pacientes com pré-eclampsia sobreposta foi quantitativamente menor do que nas pacientes com pré-eclampsia pura, porém a comparação destes valores pelo teste de Mann-Whitney não detectou significância estatística ($p=0,080$). Categorizando disfunção endotelial como DMF menor que 10%, verificou-se que a distribuição foi de 69,2% no grupo PES e 30,8% no grupo PE ($p = 0,057$). Estes dados estão apresentados na Figura 2.

Os grupos PE e PES não foram diferentes ($p=0,236$ – Teste Qui-quadrado) quando comparados pela morfologia da onda das artérias uterinas através da análise com Doppler espectral. Apenas 3 pacientes PE apresentaram incisura protodiastólica bilateral; este número foi de 6 gestantes no grupo PES.

A presença de incisura protodiastólica bilateral foi correlacionada com a DMF, mas os números não mostraram diferença estatística quanto à distribuição das pacientes segundo a medida da resposta vascular acima e abaixo de 10%.

A correlação da DMF com desfechos clínicos e perinatais, revelou que existe relação positiva com idade gestacional de internação ($r = 0,42$; $p = 0,02$), idade gestacional do recém-nascido ($r = 0,46$; $p = 0,01$) e peso do recém-nascido ($r = 0,46$; $p = 0,01$).

DISCUSSAO

O presente estudo avaliou a função endotelial no diagnóstico diferencial da síndrome de pré-eclâmpsia. A DMF mediana na PES está reduzida em comparação com PE, e quando se analisou a amostra com valores em corte abaixo de 10%, verificou-se a seguinte distribuição: 1/3 era classificada como PE e mais de 2/3 como PES. Diferença estatisticamente significativa não foi alcançada devido ao tamanho amostral. Está claro que a pré-eclâmpsia sobreposta está associada a pior função endotelial em comparação com pré-eclâmpsia pura, apesar de que a DMF não é suficiente para diferenciar ambas as apresentações clínicas da síndrome de pré-eclâmpsia.

A DMF da artéria braquial é uma técnica ultra-sonográfica simples que pode aferir a resposta vascular através da variação do diâmetro da artéria basal promovida pela hiperemia reativa à oclusão vascular, a qual é provocada pelo restabelecimento do fluxo após um período de

oclusão através da insuflação de um manguito de esfigmomanômetro. Esta medida é uma avaliação da função vascular dependente do endotélio. Tem sido verificado que em pacientes com dano endotelial, a resposta vasodilatatória está diminuída e, em alguns casos, até vasoconstrição pode ser observada (Faulx e cols, 2003; Moens e cols, 2005).

Devido a sua praticidade e aplicabilidade, a DMF vem despertando o interesse de pesquisadores nas mais diferentes áreas. Na gestação atualmente vários estudos têm sido desenvolvidos visando o acesso à função endotelial. Vários autores propõem que na pré-eclampsia haja disfunção endotelial e têm utilizado este expediente para realizar a avaliação (Sader, 2002, Veille, 1998; Takase, 2003; Sierra-Laguado, 2006). Esta é uma técnica prática, segura e conveniente para avaliar mulheres gestantes.

O presente estudo parece ser inédito quando se propõem, através da medida da DMF, verificar se é possível antecipar o diagnóstico diferencial de gestantes com PE de PES para o momento da manifestação da síndrome de pré-eclâmpsia. Após o diagnóstico definitivo diferenciando as duas condições de PE e PES, os dois grupos foram separados para análise de dados. No momento da coleta dos dados, o diagnóstico das pacientes não era conhecido, pois mesmo as pacientes do grupo PES não se sabiam hipertensas. O conhecimento de que a paciente era hipertensa prévia foi considerado critério de exclusão a fim de eliminar possível viés de observação no examinador ao medir a DMF.

Os dados apresentados na Tabela 1, referentes às características demográficas e clínicas, mostram que os grupos não são explicitamente distinguíveis através das medidas clínicas usuais aplicadas a estas pacientes. Curiosamente a diferença foi evidente no conjunto das características demográficas, as quais não são empregadas na rotina como indicadores de alta sensibilidade para hipertensão essencial. Os dados de paridade mais elevada, conseqüentemente idade materna também avançada e história prévia de PE no grupo de pacientes com PES, eram esperados. Estes

dados estão de acordo com a proposta de que a gestação é como um teste de esforço para o organismo feminino, refletindo no pior desfecho a falta de capacidade para tal demanda (Poli de Figueiredo, 2003).

Como era esperado, o grupo PES, que pode supostamente ser portador de dano endotelial prévio devido à hipertensão sistêmica, apresentou valores de DMF menores que as pacientes do grupo PE. No entanto, talvez devido ao tamanho amostral, a diferença não alcançou significância estatística, porém acreditamos que tenha relevância clínica. O detalhe de que ambos os grupos apresentavam disfunção endotelial devido à doença de base -síndrome de pré-eclampsia- também se torna relevante se for considerado que a diferença de valores da DMF não seja muito ampla, e portanto necessite de uma amostra muito grande para demonstrá-la. Outro aspecto que deve ser considerado, corroborando esta afirmação, é que dois casos dentro do grupo PE, apresentaram DMF nula, diminuindo, sobremaneira, a média desse grupo. Ambos os casos, foram caracterizados como pré-eclampsia grave (um deles apresentou síndrome HELLP e outro eclâmpsia).

Outra diferença constatada entre os dois grupos de pré-eclâmplicas refere-se à gravidade da doença. A pré-eclampsia apresenta maior gravidade quando sobreposta à hipertensão prévia (Gifford, 2000), e isto pode ser comprovado pelas variáveis idade gestacional de internação hospitalar mais precoce e baixo peso placentário.

Concluindo, a riqueza de dados levantados destas pacientes tanto para a rotina clínica, quanto para esta pesquisa pouco contribuiu para o objetivo de realizar o diagnóstico diferencial de pré-eclâmpsia durante o período gestacional. A maioria das variáveis clínicas e laboratoriais não foram diferentes entre os dois grupos, evidenciando que as mesmas parecem não ser bons indicadores da diferença entre eles, pelo menos no período em que foram coletadas. Neste contexto parece que a DMF, ainda que não tenha apresentado diferença estatisticamente

significativa, deva ser vista como uma variável promissora, especialmente se o número de observações deste estudo for aumentado; pois pode contribuir na avaliação clínica da paciente com síndrome de pré-eclâmpsia. De todas as variáveis analisadas, a DMF foi a que mostrou mais sensibilidade para o diagnóstico diferencial de hipertensão sobreposta à pré-eclâmpsia, segundo a significância desta variável em relação às outras nas comparações entre os grupos como mostra a Tabela 1. O padrão-ouro para o diagnóstico diferencial entre PE e PES ainda é o diagnóstico 12 semanas após o parto (um diagnóstico retrospectivo).

O presente estudo mostra que a dilatação mediada por fluxo não é capaz de diferenciar PE de PES em pacientes que se apresentam com a síndrome de pré-eclâmpsia. A PES está associada com função endotelial pior em comparação com PE

AGRADECIMENTOS:

O Laboratório de Nefrologia do Instituto de Pesquisas Biomédicas/HSL/FAMED/PUCRS agradece o apoio recebido do Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do HSL/PUCRS e das agências de fomento CNPq, CAPES e FAPERGS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Roberts JM, Hubel CA. The Two Stage Model of Preeclampsia: Variations on the Theme. Placenta 2009; Dec 12 [in print].
2. Selligman S, Buyon J, Clancy R, Young B, Abramson S. The role of nitric oxide in the pathogenesis of preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 1994;171(4):944-8.
3. Langenfeld MR, Simmons LA, McCrohon JA, Raitakari OT, Lattimore JD, Hennessy A et al. Nitric oxide does not mediate the vasodilation of early human pregnancy. Heart Lung Circ 2003;12(3):142-8.
4. Chavarría ME, Lara-González L, González-Gleason A, Sojo I, Reyes A. Maternal plasma cellular fibronectin concentrations in normal and preeclamptic pregnancies: a longitudinal study for early prediction of preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2002;187(3):595-601
5. Pinheiro da Costa B, Scocco C, Poli de Figueiredo C, Guimarães J. Increased serum phosphodiesterase activity in women with pre-eclampsia. BJOG 2006; 113:1-3.
6. Mombouli JV, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. J Mol Cell Cardiol 1999;31(1):61-74.
7. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. Lancet 1992;340(8828):1111-5.
8. Faulx MD, Wright AT, Hoit BD. Detection of endothelial dysfunction with brachial artery ultrasound scanning. Am Heart J. 2003;145(6):943-51.
9. Dorup I, Skajaa K & Sorensen KE. Normal pregnancy is associated with enhanced endothelium-dependent flow-mediated vasodilation. Am J Physiol 1999;276(3 Pt 2):H821-5.
10. Cockell AP, Poston L. Flow-mediated vasodilatation is enhanced in normal pregnancy but reduced in preeclampsia. Hypertension 1997;30(2 Pt 1):247-51.

11. Gifford RW, 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.
12. Regattieri NAT, Leite SP, Koch HA, Montenegro CAB. Dilatação fluxo-mediada da artéria braquial: Desenvolvimento da técnica, estudo em pacientes de risco para aterosclerose e em um grupo controle. Revista Brasileira de Ultra-sonografia 2006;9:9-13.
13. Quyyumi AA. Prognostic value of endothelial function. Am J Cardiol 2003;91(suppl): 19H-24H.
14. Moens AL, Goovaerts I, Claeys MJ, Vrints CJ. Flow-mediated vasodilation: a diagnostic instrument, or an experimental tool? CHEST 2005;127(6):2254-2263.
15. Sader MA, Celermajer DS. Endothelial function, vascular reactivity and gender differences in the cardiovascular system. Cardio Res 2002;53(3):597-604.
16. Veille JC, Gorsuch L, Weeks W, Zaccaro D. Hyperemic response of the brachial artery during the second half of pregnancy. J Soc Gynecol Investig. 1998;5(1):38-43.
17. Takase B, Gotto T, Hamabe A, Uehata A, Kuroda K, Sattomura K et al. Flow-mediated dilation in brachial artery in the second half of pregnancy and prediction of pre-eclampsia. J Hum Hypertens. 2003;17(10):697-704.
18. Sierra-Laguado J, Garcia RG, Lopez-Jaramillo P. Flow-mediated dilatation of the brachial artery in pregnancy. International Journal of Gynecology and Obstetrics. 2006;93(1):60-61.
19. Poli de Figueiredo CE, Pinheiro da Costa BE, Antonello ICF, Valdes G, Germain AM. Pregnancy: Women's stress test. Bmj.com [serial on the Internet]. 2003 Apr [citado 2003 Abril 26];326(7394):[about 1 p.]. Disponível em: <http://bmj.com/cgi/eletters/326/7394/845#31562>.

Legenda Figuras

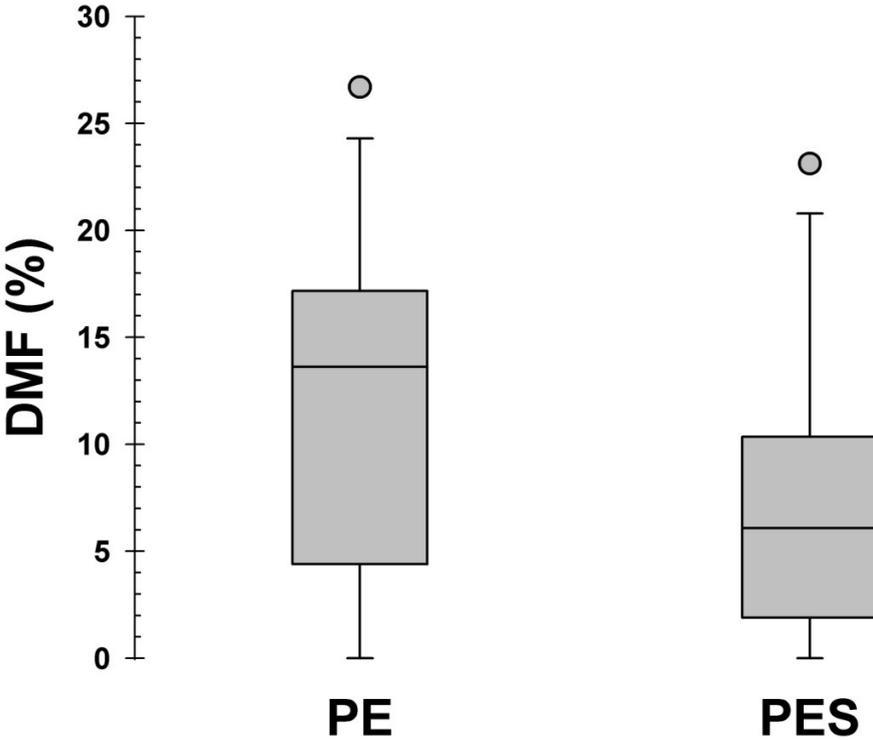
FIGURA 1 – Distribuição dos dois grupos de gestantes com síndrome de pré-eclâmpsia conforme medida da Dilatação Mediada por Fluxo da artéria braquial menor que 10%.

TABELA 1. Aspectos demográficos e clínicos da amostra de pacientes com Síndrome de Pré-eclâmpsia.

	SPE (n=27)	PE (n=14)	PES (n=13)	P
Idade (anos)	26,8 ± 5,8	24,5 ± 4,7	29,3 ± 6,0	0,030
Número de gestações (n)	2,6 ± 1,3	2,0 ± 1,2	3,1 ± 1,1	0,029
Idade gestacional na internação (semanas)	33,8 ± 4,1	35,4 ± 3,3	32,0 ± 4,4	0,036
Peso (kg)	86,5 ± 17,7	93,1 ± 20,6	79,3 ± 10,6	0,042
Altura (cm)	161,8 ± 7,9	164,5 ± 9,0	159,0 ± 5,5	0,068
História familiar de Hipertensão (n (%))	21 (77,8)	9 (64,3)	12 (92,3)	0,165
História prévia de pré-eclâmpsia (n (%))*	6 (22,2)	0 (0%)	6 (46,2)	0,006
PAS (mmHg)	149,4 ± 23,0	148,2 ± 18,5	150,7 ± 27,8	0,780
PAD (mmHg)	92,0 ± 12,5	89,6 ± 10,4	94,6 ± 14,5	0,314
Creatinina (mg/dl)	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,637
Ácido Úrico (mg/dl)	4,8 ± 1,7	4,5 ± 1,7	5,1 ± 1,8	0,341
Proteinúria 24 horas (mg)	450 (356-748)	429 (334-748)	466(360-853)	0,550
Proteinúria/Creatininúria amostra (mg/dl)	0,50 (0,29-1,36)	0,50 (0,27-1,39)	0,50 (0,27-2,51)	0,771
Cesariana (gestação atual) (n (%))	18 (66,7)	10 (71,4)	8 (61,5)	0,695
Peso recém-nascido (kg) (med (p=0,25-0,75))	2,66 (1,39-3,11)	2,89 (1,94-3,32)	2,58 (0,89-2,88)	0,089
APGAR 1 minuto	8,1 ± 1,5	7,7 ± 1,9	8,5 ± 0,9	0,180
APGAR 5 minuto	9,3 ± 0,9	9,2 ± 0,9	9,4 ± 0,9	0,496
Idade gestacional no parto (semanas)	34,7 ± 4,5	36,0 ± 3,8	33,3 ± 5,0	0,117
Pequeno para a idade gestacional (n (%))	10 (37)	3 (21,4)	7 (53,8)	0,120
Peso da placenta (gramas)	534,7 ± (201,2)	616,4 ± 192,7	446,7 ± 177,0	0,025
Incisura protodiastólica bilateral em artérias uterinas (n (%))	9 (33,3)	3 (21,4)	6 (46,2)	0,236
IR artéria uterina direita	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,352
IR artéria uterina esquerda	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,177
IR artérias umbilicais *	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,035
DMF (% (p=0,25-0,75))	10,0 (3,1-16,2)	13,6 (4,4-17,1)	6,0 (1,9-10,3)	0,080

Dados apresentados como média (\pm desvio padrão), mediana (IIQ₂₅₋₇₅) ou n (%). A probabilidade foi considerado significativa quando $<0,05$ na comparação entre os grupos PE e PES.

FIGURA 1



CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo realizado teve como proposta a implantação, no nosso meio, da avaliação da DMF da artéria braquial de gestantes com síndrome de pré-eclâmpsia através de técnica ultrasonográfica. Os resultados atingidos até o momento sugerem que esta avaliação pode contribuir para o diagnóstico diferencial de hipertensão sobreposta a pré-eclâmpsia, e já foram discutidos no artigo apresentado no Capítulo 2. Assim utilizaremos este espaço para examinar alguns resultados que não foram ainda comentados/apresentados.

Avaliações de DMF da artéria braquial geralmente são realizadas em aparelho de Ultrasonografia com ECG acoplado. O modelo utilizado no presente estudo não possui, e o uso do Doppler concomitante ao modo B para medir o calibre da artéria braquial no momento exato de seu menor diâmetro (fase diastólica final à análise com Doppler espectral) pode ser uma opção de substituição. No entanto, utilizando o Doppler simultaneamente não se consegue obter a maior magnificação da imagem oferecida no meu equipamento em uso, prejudicando bastante no momento da mensuração do diâmetro do vaso. Assim, suspende-se o uso do Doppler concomitante e passamos a trabalhar apenas com a maior magnificação. Com o máximo de aumento, conseguimos claramente evidenciar o momento de menor diâmetro do vaso (fase diastólica final) e congelar a imagem deste momento. Se a imagem paralisada, não correspondesse exatamente ao menor diâmetro vascular, com o auxílio do *track ball – cine loop* (uma ferramenta acoplada à máquina que permite retroceder a imagem recém congelada), conseguia-se retroceder a imagem e assim identificar o momento de menor calibre da artéria braquial. Esta é uma técnica não descrita, mas percebemos ser de grande utilidade e

aplicabilidade e, devido à sua praticidade e menor custo (pois não requer Doppler e nem ECG acoplados ao ecógrafo) esta poderá ser uma adaptação de técnica a ser validada.

Além dos comentários já feitos no artigo em relação ao tamanho amostral, vale lembrar que a gravidade do quadro e a idade gestacional precoce foram fatores que, impunham a execução imediata da interrupção da gestação, não justificando o gasto de tempo necessário para mensurar a DMF com objetivo de pesquisa. Outro fato relevante é que as pacientes que consultam no ambulatório de Obstetrícia do HSL vêm encaminhada pelo Sistema Único de Saúde, e esta condição muitas vezes culmina na redução do número de atendimentos às gestantes, principalmente nos ambulatórios de alto risco.

A análise dos resultados também mostrou algumas correlações interessantes que estão apresentadas abaixo na Tabela 1. A magnitude das correlações entre muitas variáveis como as destacadas na Tabela, confirmam a caracterização dos grupos em estudo.

Tabela de correlações

	DMF	IG intern	PAS	PAD	Crea	AU	P24	P/C	RN	IG parto	IR UD	IR UE	IR UMB
DMF	1	r=0,42 p=0,02	r=-0,26 p=0,17	r=-0,02 p=0,91	R=-0,03 p=0,87	r=-0,30 p=0,13	r=0,14 p=0,49	r=-0,14 p=0,47	r=0,46 p=0,01	r=0,46 p=0,01	r=-0,06 p=0,75	r=-0,25 p=0,20	r=-0,28 p=0,15
IG inter- nação	r=0,42 p=0,02	1	r=-0,46 p=0,01	r=-0,02 p=0,91	R=0,03 p=0,85	r=-0,32 p=0,10	r=-0,13 p=0,53	r=-0,37 p=0,05	r=0,84 p=0,00	r=0,94 p=0,00	r=-0,05 p=0,00	r=-0,73 p=0,00	r=-0,59 p=0,00
PAS	r=-0,26 p=0,17	r=-0,46 p=0,01	1	r=-0,02 p=0,90	R=0,12 p=0,52	r=0,35 p=0,07	r=0,18 p=0,38	r=0,53 p=0,00	r=-0,48 p=0,01	r=-0,46 p=0,01	r=0,31 p=0,10	r=0,48 p=0,01	r=0,29 p=0,13
PAD	r=-0,02 p=0,91	r=-0,32 p=0,10	r=-0,02 p=0,90	1	R=0,10 p=0,59	r=0,24 p=0,22	r=0,14 p=0,48	r=0,32 p=0,09	r=-0,39 p=0,04	r=-0,34 p=0,08	r=0,37 p=0,05	r=0,37 p=0,05	r=0,31 p=0,11
Crea	r=-0,03 p=0,87	r=0,03 p=0,85	r=0,12 p=0,52	r=0,10 p=0,59	1	r=0,64 p=0,00	r=0,51 p=0,01	r=0,04 p=0,80	r=-0,14 p=0,47	r=-0,10 p=0,60	r=0,21 p=0,30	r=0,24 p=0,23	r=0,43 p=0,02
AU	r=-0,30 p=0,13	r=-0,32 p=0,10	r=0,35 p=0,07	r=0,24 p=0,22	R=0,64 p=0,00	1	r=0,51 p=0,01	r=0,40 p=0,03	r=-0,44 p=0,02	r=-0,39 p=0,04	r=0,21 p=0,30	r=0,24 p=0,23	r=0,43 p=0,02
P24	r=0,14	r=-0,13	r=0,18	r=0,14	R=0,51	r=0,51	1	r=0,81	r=-0,31	r=-0,19	r=0,17	r=0,08	r=0,28

	p=0,49	p=0,53	p=0,38	p=0,48	p=0,01	p=0,01		p=0,00	p=0,12	p=0,36	p=0,39	p=0,69	p=0,16
P/C	r=-0,14 p=0,47	r=-0,37 p=0,05	r=-0,53 p=0,00	r=0,32 p=0,09	R=0,04 p=0,80	r=0,40 p=0,03	r=0,81 p=0,00	1	r=-0,46 p=0,01	r=-0,40 p=0,03	r=0,37 p=0,05	r=0,44 p=0,02	r=0,52 p=0,00
RN	r=0,46 p=0,01	r=0,84 p=0,00	r=-0,48 p=0,01	r=-0,39 p=0,04	R=- 0,14 p=0,47	r=-0,44 p=0,02	r=-0,31 p=0,12	r=-0,46 p=0,01	1	r=0,92 p=0,00	r=-0,62 p=0,00	r=-0,66 p=0,00	r=-0,58 p=0,00
IG parto	r=0,46 p=0,01	r=0,94 p=0,00	r=-0,46 p=0,01	r=-0,34 p=0,08	r=-0,10 p=0,60	r=-0,39 p=0,04	r=-0,19 p=0,36	r=-0,40 p=0,03	r=0,92 p=0,00	1	r=-0,54 p=0,00	r=-0,68 p=0,00	r=-0,58 p=0,00
IR UD	r=-0,06 p=0,75	r=-0,05 p=0,00	r=0,31 p=0,10	r=0,37 p=0,05	r=0,21 p=0,30	r=0,21 p=0,30	r=0,17 p=0,39	r=0,37 p=0,05	r=-0,62 p=0,00	r=-0,54 p=0,00	1	r=0,74 p=0,00	r=0,52 p=0,00
IR UE	r=-0,25 p=0,20	r=-0,73 p=0,00	r=0,48 p=0,01	r=0,37 p=0,05	r=0,24 p=0,23	r=0,24 p=0,23	r=0,08 p=0,69	r=0,44 p=0,02	r=-0,66 p=0,00	r=-0,68 p=0,00	r=0,74 p=0,00	1	r=0,53 p=0,00
IR UMB	r=-0,28 p=0,15	r=-0,59 p=0,00	r=0,29 p=0,13	r=0,31 p=0,11	r=0,43 p=0,02	r=0,43 p=0,02	r=0,28 p=0,16	r=0,52 p=0,00	r=-0,58 p=0,00	r=-0,58 p=0,00	r=0,52 p=0,00	r=0,53 p=0,00	1

DMF = dilatação mediada por fluxo; IG intersetão = idade gestacional no momento da intersetão; PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; Crea = creatinina; AU = ácido úrico; P24 = proteína de 24 horas; P/C = proteinúria/creatininúria de amostra; RN = peso do RN; IG parto = idade gestacional no parto; IR UD = Índice de Resistência na artéria uterina direita; IR UE = Índice de Resistência na artéria uterina esquerda; IR AUMB = Índice de Resistência na artéria umbilical

Finalmente, nossos achados levam a acreditar no futuro da DMF como ferramenta auxiliar no diagnóstico e manejo dos distúrbios hipertensivos da gestação. A possibilidade de implantar a técnica através do projeto desenvolvido foi um importante passo para o prosseguimento de futuras pesquisas no nosso meio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 – Gifford RW, 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.
- 2 - Roberts JM, Hubel CA. The Two Stage Model of Preeclampsia: Variations on the Theme. *Placenta* 2009; Dec 12 [in print].
- 3 - Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA, Morgan JP, Sellke FW, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Investig* 2003; 111:649-658.
- 4 - Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004; 350:672-683.
- 5 - Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, Sibai BM, Epstein FH, Romero R, Thadhani R, Karumanchi SA. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006; 355:992-1005.
- 6 - Roberts JM, Gammill HS. Preeclampsia: recent insights. *Hypertension* 2005; 46(6):1243-9.
- 7 - Mombouli JV, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31(1):61-74.
- 8 - Chambers JC, Fusi L, Malik IS, Haskard DO, Swiet M, Kooner JS. Association of maternal endothelial dysfunction with preeclampsia. *JAMA* 2001;285(12):1607-12.

- 9 - Connors N, Merrill D. Antioxidants for prevention of preterm delivery. *Clin Obstet Gynecol* 2004;47(4):822-32.
- 10 - Fenster BE, Tsao OS, Rockson, SG. Endothelial dysfunction: clinical strategies for treating oxidant stress. *Am Heart J* 2003;146(2):218-26.
- 11 - Chavarría ME, Lara-González L, González-Gleason A, Sojo I, Reyes A. Maternal plasma cellular fibronectin concentrations in normal and preeclamptic pregnancies: a longitudinal study for early prediction of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187(3):595-601.
- 12 - Anderson EA, Mark AL. Flow-mediated and reflex changes in large peripheral artery tone in humans. *Circulation* 1989; 79: 93-100.
- 13 - Corretti MC, Plotnick GD, Vogel RA. Correlation of cold pressor and flow-mediated brachial artery diameter responses with the presence of coronary artery disease. *AM J Cardiol* 1995, 15:783-7.
- 14 - Moens AL, Goovaerts I, Claeys MJ, Vrints CJ. Flow-mediated vasodilation: a diagnostic instrument, or an experimental tool? *CHEST* 2005;127(6):2254-2263.
- 15 - Faulx MD, Wright AT, Hoit BD. Detection of endothelial dysfunction with brachial artery ultrasound scanning. *Am Heart J.* 2003;145(6):943-51.
- 16 - Sader MA, Celermajer DS. Endothelial function, vascular reactivity and gender differences in the cardiovascular system. *Cardiov Res* 2002;53(3):597-604.
- 17 – Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329(27):2002-12.
- 18 - Cockell AP, Poston L. Flow-mediated vasodilatation is enhanced in normal pregnancy but reduced in preeclampsia. *Hypertension* 1997;30(2 Pt 1):247-51.
- 19 – Spector, N. Manual para a redação de teses, projetos de pesquisa e artigos científicos. 2ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 150, 2001.

20 – Figueiredo AE, Pinheiro da Costa BE, Conti A, Poitevin AA, Filho BJ, Torres E, d'Avila DO, Poli de Figueiredo CE. Peritoneal transport function and endothelium-dependent vasodilation. *Perit Dial Int* 2007. 27(2):203-5.

21 – Barreiro FF, Oliani CHP, Cunha Filho EV, Poli de Figueiredo CE, Pinheiro da Costa BE. Dilatação Mediada por Fluxo na Pré-Eclampsia. *Acta Médica (Porto Alegre)*, v. 1, p. 115-118, 2008.