



**UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
MESTRADO EM TOCGINECOLOGIA**

**ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS
E PRÉ-ECLÂMPSIA**

Mestrando: MOISÉS DIÓGO DE LIMA

Orientador: Prof. Dr. OLÍMPIO BARBOSA DE MORAES FILHO

**Recife
2008**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



MOISÉS DIÓGO DE LIMA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS
E PRÉ-ECLÂMPSIA**

Dissertação apresentada a banca examinadora do curso de Mestrado em Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Pernambuco, como exigência parcial para obtenção do Título de Mestre, sob. Orientação do Prof. Dr. Olímpio Barbosa de Moraes Filho.

Recife, 2008

L732a Lima, Moisés Diogo de.

Associação entre marcadores inflamatórios e pré-eclâmpsia / Moisés Diogo de Lima.- Recife, 2008.

72p. : il.

Orientador: Olímpio Barbosa de Moraes Filho

Dissertação (mestrado) – UPE, FCM, Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia, 2008.

1. Pré-eclâmpsia 2. Etiopatogenia. 3. Marcadores inflamatórios.

UPE

CDU: 618.1(043)

**UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**

REITOR

Prof. Carlos Fernando de Araújo Calado

VICE-REITOR

Prof. Reginaldo Inojosa Carneiro Campello

PRÓ-REITOR DA PÓS-GRADUAÇÃO

Prof^a. Dr^a Viviane Colares Soares de Andrade Amorim

COORDENADOR DE PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Fernando Buarque de Lima Neto

DIRETOR DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

Prof. Marcelo Lins Cirne de Azevedo

**COORDENADOR DE PÓS-GRADUAÇÃO DA FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS**

Prof. Dr. Rivaldo Mendes de Albuquerque

COORDENADORA DO PROGRAMA DE MESTRADO EM TOCGINECOLOGIA:

Prof^a. Dr^a. Laura Olinda Bregieiro Fernandes Costa.

**DEPARTAMENTO MATERNO-INFANTIL
CURSO DE MESTRADO EM TOCGINECOLOGIA**

CERTIFICADO

Certificamos para os devidos fins, que o médico **Moisés Diogo de Lima**, concluiu o Curso de Mestrado em Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas – Universidade de Pernambuco, com a dissertação intitulada “Associação entre os Marcadores Inflamatórios e a pré-eclampsia”, sob a orientação do Prof. Dr. Olímpio Barbosa de Moraes Filho, realizada no dia 5 de dezembro de 2008, as 9:00h, no Auditório Albérico Câmara – 1º andar do Centro Integrado de Saúde Amaury de Medeiros - CISAM, Rua Visconde de Mamanguape, s/nº, Encruzilhada, Recife – PE.

Recife, 5 de dezembro de 2008.

Rivaldo Mendes de Albuquerque

Prof. Dr. Rivaldo Mendes de Albuquerque
Coordenador de Pós-Graduação da FCM

SERVÍCIOS NOTARIAIS DO 5º OFÍCIO
ARNALDO MACIEL - TABELIÃO
Rua Bispo de Campos - 100 - Centro
Tel.: (081) 3224-7433 - Recife-PE

RECONHECO a(s) firmas de:
0004685-RIVALDO MENDES DE ALBUQUERQUE
P/ sem. dou fe'

Em testemunho da verdade.
RECIFE, 09 de Dezembro de 2008

68-UBIRAJARA GOMES DE LIMA JUNIOR
ESCREVENTE AUTORIZADO

| | | |
|----------------|-----|------|
| Emolumentos | R\$ | 2,38 |
| I.S.N.R. (20%) | R\$ | 0,47 |
| TOTAL | R\$ | 2,85 |

DOCUMENTO VÁLIDO COM SELO DE AUTENTICIDADE



Dedico este trabalho...

***Aos meus Pais,
com toda admiração que me for possível externar.***

AGRADECIMENTOS

A Deus, a quem entrego minha vida.

Aos meus familiares pelo constante apoio, incentivo e razão da minha vida. João Enóbio de Lima, Josefa Diogo de Lima, Rosana Diogo de Lima, Marcus Diogo de Lima, Samuel Diogo de Lima, Maria Verônica G. Diogo de Lima, Francilídia Helena S. Diogo de Lima, Esther Gonçalves Diogo de Lima, Mariana Diôgo de Lima Costa, André G. Diôgo de Lima, Luísa Diogo de Lima Costa, Ruth G. Diogo de Lima, Pedro Henrique Silva Diôgo de Lima (in memoriam), Rafael Silva Diôgo de Lima e Margarida Diôgo Dantas.

À amiga Adriana Torres, exemplo de dedicação e companheirismo nesta jornada e agora, para sempre.

Ao amigo-irmão Pe. Pedro Alexandre da Silva.

Aos amigos, Eduardo Sérgio Soares Sousa e Marcelo Gaudêncio Ponce Leon, pelos ideais acadêmicos em comum.

Aos amigos e colegas de trabalho que nas minhas ausências souberam entender os meus propósitos; Luthgard Gomes, Lívia Ponciano e Fernando Gondim.

Aos técnicos dos laboratórios do Hospital Universitário Lauro Wanderley, Universidade Federal da Paraíba, Mayza Nóbrega Freire e do Hospital Universitário Alcides Carneiro, Universidade Federal de Campina Grande, Robson Nóbrega, pela gentileza no atendimento.

Especial agradecimento ao Prof. Paulo Barros do laboratório PRONTO-ANALISE em Campina Grande, Paraíba e à Sra. Margareth, pela atenção dispensada.

Aos professores do Departamento de Obstetrícia e Ginecologia do Centro de Ciências Médicas da Universidade Federal da Paraíba, Dr. Cláudio Sérgio Medeiros Paiva e Dra. Maria Amélia Rolim Rangel e Dr. José Gomes Batista, exemplos de profissionais, pelo incentivo ao meio acadêmico, a mim sempre oferecidos.

Aos professores do Mestrado em Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Pernambuco, particularmente ao Prof. Dr. Olímpio Barbosa de Moraes Filho, orientador desta pesquisa.

*“Digo que me encontro no conhecimento de uma única
ciência: a do amor.”*

Sócrates

RESUMO

Introdução: A Pré-eclâmpsia (PE) constitui-se em uma síndrome clínica de alta incidência nos países em desenvolvimento caracterizada por hipertensão arterial, proteinúria e em suas formas mais graves, associada a danos hepáticos, renais e coagulopatia. Seu mecanismo etiopatogênico e suas implicações fisiopatológicas são motivos de vários estudos. Permanece incerto o fator etiológico, ou fatores, associados à origem da PE. Várias correntes de pesquisas acreditam que a placenta representa o fator causal mais evidente. A perturbação no processo de implantação, motivada pela intolerância materna ao alo-enxerto fetal, torna-a incapaz de promover o necessário remodelamento da estrutura músculoelástica das artérias espiraladas e, assim, estabelecer as conexões vasculares adequadas materno-fetais. A hipóxia resultante parece responsável pelas alterações endoteliais, sistêmicas e locais observadas, com ênfase ao processo aterosclerótico, motivado pelo estresse oxidativo e inflamatório resultante. Estima-se que entre 9 – 10% das mulheres grávidas do Brasil estejam em risco de desenvolver a síndrome, sobretudo as primigestas. **Objetivos:** Mensurar a presença de marcadores inflamatórios, fator de necrose tumoral-alfa (FNT-alfa), Interleucina-6 (IL-6) e Proteína C-reativa (PCR), em mulheres grávidas com diagnóstico de pré-eclâmpsia e em grávidas sem a síndrome. **Métodos:** Foi realizado um estudo transversal e analítico, entre o período de abril a setembro de 2008, incluindo 81 mulheres grávidas atendidas no Hospital Universitário Lauro Wanderley e Instituto Cândida Vargas, na cidade de João Pessoa – Paraíba, Brasil, que, após consentimento informado, concordaram em participar da pesquisa e posteriormente distribuídas em dois grupos. Um composto por 41 grávidas com pré-eclâmpsia (grupo-doença) e outro com 40 mulheres grávidas normotensas (grupo-controle). Seleccionadas para a pesquisa, foi coletado cerca de 10ml de sangue venoso periférico, centrifugado para obtenção do soro, alíquotados em duas amostras e congelados a -30°C . O FNT-alfa e a IL-6 foram mensurados pela técnica de quimioluminescência e a PCR, através do método de turbidimetria. Foram mensurados e comparados os níveis dos marcadores inflamatórios nos dois grupos, quanto a idade materna, paridade e idade gestacional. Analisada a possível correlação linear entre os marcadores e características dos mesmos quanto a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo, razão de verossimilhança positiva e negativa e índice de Youden. Os dados foram plotados nos *softwares* estatísticos EPIINFO versão 3.3.2 e MEDCALC versão 10.0 e submetidos à análise de possível distribuição Normal ou não e averiguação de significância admitindo-se um p valor $< 0,05$. Os testes para análise das médias e medianas empregados foram, respectivamente ANOVA e Mann-Whitney. **Resultados:** Nas características gerais da amostra não houve diferença significativa quanto a idade materna e idade gestacional. Quanto à paridade observou-se diferença estatística entre os grupos. Foram encontrados altos valores de PCR em mulheres pré-eclâmpicas, mediana de 6,7mg/dl, comparadas com as mulheres grávidas normais, mediana de 4,2mg/dl, (p=0,000). O FNT- α foi significativamente elevado em mulheres com pré-eclâmpsia, mediana de 19,6pc/ml, em relação ao grupo controle, mediana de 13,7pc/ml, (p=0,003). Os níveis de IL-6 foram significativamente altos em mulheres pré-eclâmpicas, mediana de 6,9pc/ml, em comparação com grávidas normais, mediana de 2,1pc/ml, (p=0,000). Houve significativa correlação de linearidade entre o FNT- α e IL-6 (p<0,001). Não se

observou forte correlação de linearidade entre a PCR e o FNT-alfa e a IL-6. Os testes mostraram diferentes resultados para sensibilidade e especificidade. Para a PCR a sensibilidade foi de 48,7%, especificidade de 85%, VPP de 76%, VPN de 48%, RV+ de 3,2, RV- de 0,6% Índice de Youden de 0,33. Para o FNT-alfa a sensibilidade foi de 68,27%, especificidade de 70%, VPP de 69%, VPN de 66%, RV+ de 2,2, RV- de 0,4% Índice de Youden de 0,4. Para IL-6 a sensibilidade foi de 90%, especificidade de 80%, VPP de 82%, VPN de 88%, RV+ de 4,5, RV- de 0,1% Índice de Youden de 0,7. **Conclusão:** Esta pesquisa permitiu a observação de nítida atividade inflamatória no contexto fisiopatológico da síndrome pré-eclâmpsia. Não se encontrou, entretanto, linearidade entre a PCR, marcador inflamatório de baixo custo, quando relacionada aos demais marcadores de alto custo. Entre eles a melhor correlação se deu entre a IL-6 e o FNT-alfa. Com relação às características dos testes a interleucina-6 mostrou-se como o marcador de melhor sensibilidade e especificidade. Depreende-se, por fim, a necessidade de se estabelecer um estudo de coorte longitudinal com controle de variáveis, a fim de se determinar se a atividade inflamatória observada é causa ou efeito na dimensão etiopatogênica e fisiopatológica da síndrome em questão.

Palavras-chave: Pré-eclâmpsia; Etiopatogenia; Marcadores Inflamatórios

ABSTRACT

Introduction: The preeclampsia (PE) is a clinical syndrome of high incidence in developing countries, characterized by hypertension, proteinuria and in its most severe forms, associated with liver damage, kidney and coagulopathy. Your etiopathogenic mechanism and pathophysiological implications are reasons for various studies. Remains uncertain etiological factor, or factors associated with the origin of the PE. Several streams of research believe that the placenta is the most obvious causal factor. A disturbance in the process of implantation, motivated by intolerance to maternal fetal allograft makes it unable to promote the necessary remodeling of spiral arteries structure and thus establish the vascular connections appropriate maternal-fetal. The resulting hypoxia seems responsible for endothelial changes, systemic and local observed, with emphasis on the atherosclerotic process, motived by oxidative stress and inflammation resulting. It is estimated that between 9 to 10% of pregnant women in Brazil are at risk of developing the syndrome, particularly primipaternity. **Objective:** Measure the presence of inflammatory markers, tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), Interleukin-6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) in pregnant women diagnosed with preeclampsia and in pregnant women without syndrome. **Methods:** This was a cross-sectional analytical study, between the period April to September 2008, including 81 pregnant women treated at University Hospital and Institute Cândida Vargas, at the city of João Pessoa - Paraíba, Brazil, which, after informed consent, agree to participate and subsequently divided into two groups, a group of 41 pregnant women with preeclampsia (disease group) and another with 40 normotensive pregnant women (control group). Selected for the research, it was collected about 10 ml of peripheral venous blood, centrifuged to obtain serum, aliquots from two samples and frozen at -30°C . The TNF-alpha and IL-6 were measured by the technique of chemiluminescent assay and PCR, using the method of turbidimetry. They were measured and compared the levels of inflammatory markers in both groups, as maternal age, parity and gestational age. It was examined the possible linear correlation between the markers and the same characteristics as sensitivity, specificity, positive and negative predictive value (PPV and NPV) and positive and negative likelihood ratio (PLR and NLR) and Youden index. The values were plotted in EPIINFO statistical software version 3.3.2 and MedCalc version 10.0 and submitted to analysis of possible Normal distribution or not and the p-value $<0,05$ was accepted as significant. Statistics tests for analysis of means and medians were used, respectively ANOVA and Mann-Whitney. **Results:** In the general characteristics of the sample, there were no significant difference in maternal age and gestational age. At about the number of pregnancies was observed difference between groups. We found high levels of CRP in women with preeclampsia, median of 6.7 mg / dl, compared with normal pregnant women, median of 4.2 mg / dl, ($p = 0,000$). The TNF-alpha was significantly higher in women with preeclampsia, median of 19.6 pc / ml in the disease group and median of 13.7 pc / ml, in the control group, ($p = 0,003$). The levels of IL-6 were significantly higher in women with preeclampsia, median of 6.9 pc / ml, compared with normal pregnant women, median of 2.1 pc / ml, ($p = 0,000$). There was significant correlation of linearity between IL-6 and TNF-alpha, ($p <0,001$). There was not strong correlation of linearity between of PCR and TNF-alpha and IL-6. The tests showed different results for sensitivity and specificity. For PCR the sensitivity was 48.7%, specificity 85%,

PPV of 76%, NPV of 48%, PLR of 3.2, 0.6% of NLR and Youden index of 0.33. For the TNF-alpha sensitivity was 68.27%, specificity 70%, PPV of 69%, NPV of 66%, PLR of 2.2, 0.4% of NLR and Youden index of 0.4. For IL-6 the sensitivity was 90%, specificity 80%, PPV of 82%, NPV of 88%, PLR of 4.5, 0.1% of NLR and Youden index of 0.7. **Conclusion:** This search allowed the observation of evident inflammatory activity in the pathogenesis of the syndrome. It is not, however, observed linearity between the PCR, inflammatory marker of low cost, when related to other markers of high cost. Among them, it was showed the best correlation between IL-6 and TNF-alpha. In respect to the characteristics of the test, the interleukin-6 proved to be the best marker of sensitivity and specificity. Finally, there is the necessity of establish a longitudinal cohort study with control variables in order to determine whether the observed inflammatory activity is a cause or effect in the perspective of etiopathogenic and pathophysiology of the syndrome.

Keywords: Preeclampsia; Etiopathogenesis; inflammatory markers

LISTA DE TABELAS

| | | |
|----------|---|----|
| TABELA 1 | Características gerais no grupo com PE e no grupo GNT | 39 |
| TABELA 2 | Valores de PCR, FNT- α e IL-6 nos grupos: PE e GNT | 40 |
| TABELA 3 | Características dos testes diagnósticos | 43 |

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

GRÁFICOS

| | | |
|-----------|--|----|
| GRÁFICO 1 | Modelo de regressão linear entre a PCR e FNT- α | 41 |
| GRÁFICO 2 | Modelo de regressão linear entre a PCR e IL-6 | 41 |
| GRÁFICO 3 | Modelo de regressão linear entre a IL-6 e FNT- α | 42 |
| GRÁFICO 4 | Representação gráfica da curva ROC, sua áreas, intervalos de confiança | 43 |

FIGURAS

| | | |
|----------|--|----|
| FIGURA 1 | Efeitos de uma má placentação sobre o sistema vascular materno-placentário | 25 |
| FIGURA 2 | Esquema hipotético da etiopatogênico da pré-eclâmpsia | 35 |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | ARTIGO I – PRÉ-ECLÂMPسيا: UMA SÍNDROME CLÍNICA DE CAUSAS HETEROGÊNEAS | 15 |
| 1.1 | Introdução | 20 |
| 1.2 | Conhecimento Etiopatogênico da Pré-eclâmpسيا | 21 |
| 1.2.1 | Determinantes imunogénicos e envolvimento das células <i>natural killer</i> | 22 |
| 1.2.2 | Envolvimento dos leucócitos e citocinas pró-inflamatórias | 22 |
| 1.2.3 | O estresse oxidativo na patogênese da pré-eclâmpسيا | 24 |
| 1.2.4 | A pré-eclâmpسيا e as infecções | 26 |
| 1.3 | Referências | 27 |
| 2 | ARTIGO II – ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS E PRÉ-ECLÂMPسيا | 30 |
| 2.1 | Introdução | 34 |
| 2.2 | Método | 37 |
| 2.3 | Resultados | 38 |
| 2.4 | Discussão | 44 |
| 2.5 | Referências | 47 |
| 2.6 | Considerações Finais | 50 |
| | APÊNDICES | 52 |
| | Apêndice A Projeto de Pesquisa | 53 |
| | Apêndice B Protocolo de Pesquisa | 85 |
| | Apêndice C Termo de Consentimento | 88 |
| | Apêndice D Tabelas de Contingência | 90 |
| | ANEXOS | 92 |
| | Anexo A Cópia da Aprovação no Comitê em Pesquisa com Seres Humanos | 93 |
| | Anexo B Roteiro para apresentação da dissertação/tese nos Programas de Pós-Graduação em Tocoginecologia da FCM/UPE | 95 |

**ARTIGO I - PRÉ-ECLÂPSIA: UMA SÍNDROME CLÍNICA DE CAUSAS
HETEROGÊNEAS**

PRÉ-ECLÂMPسيا: UMA SÍNDROME CLÍNICA DE CAUSAS HETEROGÊNEAS

Moisés Diôgo de Lima¹
Olímpio Barbosa de Moraes Filho²

Local da Pesquisa
Hospital Universitário Lauro Wanderley – Universidade Federal da Paraíba
Instituto Cândida Vargas – Secretaria de Saúde de João Pessoa

Endereço para correspondência
Moisés Diôgo de Lima
Endereço: R. Geraldo Costa 745, Apto 402 – Manaíra – CEP: 59038-131
João Pessoa – Paraíba – Brasil
Telefones: 55 (83) 3247-2624 / 55 (83) 9996-1501
e-mail: drmoiseslima@gmail.com

Olimpio Barbosa de Moraes Filho
R. Visconde de Mamanguape S/N – Encruzilhada – CEP: 52030-010
Recife - Pernambuco – Brasil
Telefone: 55 (81) 3182-7749 / 55 (81) 9615-2188
e-mail: olimpiomoraes@yahoo.com.br

¹ Professor do Departamento de Obstetrícia e Ginecologista da Universidade Federal da Paraíba e Obstetra do Serviço de Obstetrícia do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba, Mestre em tocoginecologia pela Universidade de Pernambuco.

² Professor-Doutor da Disciplina de Obstetrícia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Pernambuco.

RESUMO

TÍTULO: PRÉ-ECLÂMPسيا: UMA SÍNDROME CLÍNICA DE CAUSAS HETEROGÊNEAS.

A pré-eclâmpsia é uma síndrome clínica de etiologia desconhecida. Múltiplas teorias têm sido sugeridas, entretanto, nenhuma delas foi aceita de forma definitiva até o momento. A ausência de um conhecimento etiopatogênico claro não permite medidas de profilaxia primária, restando um diagnóstico precoce da doença a oportunidade de reverter as elevadas taxas de morbimortalidade materna e perinatal relacionadas à síndrome, particularmente nos países em desenvolvimento. Esta revisão literária sugere novas teorias que apontam para a placenta, e seu processo de implantação, como a possível origem da doença determinada pela má adaptação materna ao aloenxerto fetal. Recentes estudos demonstram a importância dos fenômenos imunogenéticos envolvidos como as possíveis modificações nos genes para o *human leukocyte antigen*, na atividade dos linfócitos T e células *natural killer*, responsáveis pelo necessário processo de implantação. A perturbação no sistema imune resulta em uma placenta hipóxica e conseqüente resposta inflamatória envolvendo um dano endotelial sistêmico que tem como substrato o estresse oxidativo e a liberação de citocinas inflamatórias caracterizando um acelerado e intenso fenômeno aterosclerótico. No contexto epidemiológico da pré-eclâmpsia, notadamente aqueles dos países em desenvolvimento, cita-se, também, a importância das infecções: urinárias, cervicais, odontológicas e sistêmicas, provavelmente capazes de interferir ativamente no processo fisiopatológico que culmina com uma síndrome de resposta inflamatória sistêmica.

Palavras-chave: Pré-eclâmpsia; Etiopatogenia; Fisiopatologia; Atividade Inflamatória

ABSTRACT

TITLE: PREECLAMPSIA: A CLINICAL SYNDROME OF HETEROGENEOUS CAUSES.

Preeclampsia is a clinical syndrome of unknown etiology. Multiple theories have been suggested, however, none was accepted definitively so far. The absence of a clear etiopathogenic knowledge does not allow measures of primary prophylaxis, leaving the early diagnosis of disease the opportunity to reverse the high rates of maternal and perinatal morbidity related to the syndrome, particularly in developing countries. This literature review suggests that new theories consider the placenta and its process of implantation, such as the possible origin of the disease determined by poor adaptation to the maternal fetal allograft. Recent studies show the importance of the immunogenetics phenomena as the possible modifications in the genes for human leukocyte antigen, the activity of T-lymphocytes and natural killer cells, responsible for the necessary process of nidation. A disturbance of immune system results in a hypoxic placenta and consequent inflammatory response involving systemic endothelial damage, that has as substrate the oxidative stress and the release of inflammatory cytokines, characterizing a fast and intense atherosclerotic phenomenon. In the epidemiological context of preeclampsia, especially those in developing countries, it has been also referred the importance of infections: urinary, cervical, dental and systemic, probably able to interfere actively in the pathophysiological process that culminates in an inflammatory response syndrome. Keywords: Preeclampsia; Etiopathogenesis; Pathophysiology; inflammatory activity

**ARTIGO I – PRÉ-ECLÂMPsia: UMA SÍNDROME CLÍNICA DE CAUSAS
HETEROGÊNEAS**

1 ARTIGO DE REVISÃO: PRÉ-ECLÂMPسيا: UMA SÍNDROME CLÍNICA DE CAUSAS HETEROGÊNEAS

1.1 Introdução

A pré-eclâmpsia (PE) é uma síndrome clínica de etiologia desconhecida caracterizada por hipertensão arterial materna e proteinúria. Nas suas formas mais severas, está associada a trombocitopenia, coagulação intra-vascular disseminada e danos hepatocelulares^{1,2}.

A hipertensão arterial é definida como uma pressão sanguínea sistólica de 140 mmHg e uma pressão sanguínea diastólica de 90 mmHg, em geral, surgindo após a 22^a semana gestacional em mulheres previamente normotensas. A proteinúria é estabelecida pela excreção de 300 mg ou mais de proteínas em coleta de 24 horas. Quando a análise da perda protéica urinária em 24 horas não é possível, a presença de 1 + (30 mg/dl), ou mais, em amostra isolada de urina é usualmente utilizada¹.

A incidência de PE nos Estados Unidos da América (EUA) é de 6% - 8% em todas as gestações. No Brasil as cifras oscilam em torno de 9% – 10%³. Nas diabéticas acrescenta-se mais 4% de incidência e nas primíparas com gestação gemelar, mais de 30%. Deve-se considerar, entretanto, que interferências de ordem geográfica, social, econômica e racial são responsáveis por uma elevação neste índice, em até três vezes mais, considerando algumas populações específicas⁴.

Não menos relevantes são os coeficientes de mortalidade materna encontrados nesta síndrome. A análise das causas das mortes maternas em revisão sistemática realizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) demonstrou que na África e Ásia a principal razão de morte foram os quadros hemorrágicos⁵. Na América Latina e Caribe o motivo principal dos óbitos foi a hipertensão arterial⁶.

O índice de mortalidade materna em nosso país passou de 51,9 óbitos por 100 mil nascidos vivos, em 1996, para 64,8 óbitos por 100 mil nascidos vivos em 1998. Em 2001, o resultado encontrado foi semelhante ao ano de 1996, com cerca de 50 mortes para 100 mil nascidos vivos. Entre as causas diretas, a pré-eclâmpsia e eclâmpsia foram as que mais se destacaram em todo o período, representando 18,7% das ocorrências letais^{7,8}.

A despeito dos recentes progressos nos conhecimentos imunobiológicos a pré-eclâmpsia mantém-se responsável por cerca de 40% dos partos prematuros⁹.

Há décadas inúmeras teorias vêm sendo propostas para explicar a gênese da pré-eclâmpsia. Até o momento nenhuma delas foi aceita de forma única e definitiva. Tem-se dado ênfase a uma excessiva resposta inflamatória como um dos possíveis mecanismos na etiopatogenia da pré-eclâmpsia, possivelmente, associados aos fenômenos imunológicos, a ativação dos leucócitos sanguíneos, ao estresse oxidativo e as infecções, convergindo para um quadro de exacerbação inflamatória, característica de uma disfunção endotelial sistêmica¹⁰.

Assim, a PE continua a despertar o interesse das investigações médicas na tentativa de se encontrar os fatores que, isoladamente ou sinergicamente, agem no desencadear das manifestações clínicas, cujo objetivo último dos estudos, é o de reduzir a morbimortalidade materna e perinatal associadas a esta doença.

O objetivo desta revisão foi o de rever os principais conceitos envolvidos na gênese da PE. Para isto utilizamos os bancos de dados *Medline*, BIREME, LILACS e PubMed, empregando-se palavras-chaves primárias “pré-eclâmpsia” e secundárias, “etiopatogenia”, “marcadores inflamatórios”, “Fator de Necrose Tumoral-alfa”, “Proteína C reativa”, “Interleucina-6”, correspondendo no idioma inglês “preeclampsia”, “etiopathogeny”, “inflammatory markers”, “Tumor Necrosis Factor-alpha”, “C-reactive protein”, “Interleukin-6”, com o conectivo “e”. Foram selecionados 41 artigos acerca do tema.

1.2 Conhecimento Etiopatogênico da Pré-Eclâmpsia

Considerando o fato de não se dispor de um modelo único, claramente estabelecido, no determinismo da pré-eclâmpsia, é razoável supor que, a doença, no contexto de suas manifestações clínicas, compreende causas básicas diferentes, com suas próprias características, história natural, e, provavelmente, marcadores clínicos distintos¹¹.

Recentes estudos em relação à etiopatogenia e fisiopatologia da PE apontam para uma síndrome com modificações patológicas semelhantes à aterosclerose e sugerem que a doença pode ser devida a uma inapropriada adaptação entre o binômio materno-fetal. A síndrome seria causada pela presença

da placenta ou seria o resultado de uma resposta materna à placentação, mediada por fatores de tolerância genéticos, imunológicos e inflamatórios¹².

1.2.1 Determinantes imunogenéticos e envolvimento das células *natural killer*

Grande impacto surgiu no entendimento fisiopatológico da gestação humana após os conhecimentos acerca dos fatores imunogenéticos envolvidos, tais como: a frequência de genes alelos para o *human leukocyte antigen* (HLA) e as características genéticas homozigóticas maternas e materno-fetal, compartilhadas entre si e entre os casais¹³.

Evidências clínicas sugerem que a resposta materna imunológica, controlada localmente na interface materno-fetal, tem uma fundamental importância no sucesso da reprodução humana¹⁴.

Para a evolução de uma gravidez normal há uma modificação na atividade dos linfócitos T1-helper (atividade pró-inflamatória) e linfócitos T2-helper (supressão inflamatória) observando-se uma maior atividade dirigida ao fenótipo supressor. Esta mudança surge para permitir a tolerância imunológica ao feto (enxerto semi-alogênico) em combinação com outros fatores de proteção como, por exemplo, a presença do HLA-G não polimórfico de origem trofoblástica e uma *down regulation* das células *natural killer* (NK), todos contribuindo, na interface materno-fetal, para o sucesso da implantação¹⁵. O HLA-G é um ligante para ao menos três classes de células NK e outras células inibidoras dos receptores para as superfamília das imunoglobulinas¹⁶.

Embora não totalmente esclarecido postula-se que modificações na frequência de genes alelos para o HLA-G, ou sua interação com outros genes, possam ser a causa da PE e da restrição de crescimento intra-útero¹³.

1.2.2 Envolvimento dos leucócitos e citocinas pró-inflamatórias

A perturbação do sistema imune é um fator primordial no contexto da resposta inflamatória da PE. É necessário salientar que a mobilização leucocitária

representa uma forma de resposta inflamatória “estéril”, desenvolvida pela própria gravidez, e, não necessariamente, uma resposta mediada por infecção¹⁷.

A gênese do processo de inflamação é um dramático aumento na mobilização e expressão de moléculas na superfície do tecido endotelial. Este mecanismo é responsável por uma cascata de eventos que culmina com a adesão dos leucócitos sanguíneos ao local da injúria inicial que, a princípio local, pode generalizar-se e envolver completamente o compartimento vascular, como em uma sepse^{18,19}.

A adesão leucocitária e a transmigração celular são reguladas principalmente pela ligação de moléculas de adesão complementares ao leucócito na superfície endotelial e pelos mediadores químicos – quimiotoxinas e determinadas citocinas – que afetam esses processos modulando a expressão leucocitária na superfície endotelial ou aumentando a avidéz destas moléculas de adesão²⁰.

O recrutamento dos leucócitos para os locais da lesão e infecção é um processo que contém várias etapas e envolve a ligação dos leucócitos circulantes às células endoteliais e sua migração através da membrana endotelial. Os eventos que se seguem incluem a indução das moléculas de adesão por meio de vários mecanismos. Um dos mecanismos envolvidos é mediado pelos macrófagos tissulares, mastócitos e células endoteliais que respondem aos agentes lesivos com a secreção de citocinas, sendo as principais: o Fator de Necrose Tumoral α e β (TNF), Interleucina-1 (IL-1) e quimocinas (citocinas quimiotáticas)¹⁹.

As citocinas são mensageiros da cascata da inflamação caracterizada pela elevação e atividade sinérgica de várias delas, em especial, FNT- α e as IL-1 β , IL-6 e IL-8. A elevação do FNT- α e IL-1 β é relatada por vários autores^{21,22} e quanto à presença da IL-6 e IL-8 os resultados são conflitantes^{21,22,23,24}.

A presença das citocinas no curso da gestação pré-eclâmpsica é conhecida de longa data, sua origem, no entanto, não está totalmente esclarecida²¹. Algumas teorias parecem implicar o seu surgimento a partir da análise de placentas de grávidas acometidas pela síndrome. Estes dados, entretanto, não são totalmente consistentes, uma vez que, estudos recentes, não demonstraram diferenças significativas na expressão dos níveis de TNF- α , IL-1 β e IL-6 nas placentas destas mulheres, quando comparadas com controles normais^{25,26}.

A atividade pró-inflamatória das citocinas podem induzir alterações estruturais e funcionais no endotélio vascular incluindo o dano oxidativo e modificações no mecanismo de relaxamento/contração vascular o que acarreta alterações na integridade da parede dos vasos, no tono e na coagulação²⁷.

Em sinergismo com a elevação das citocinas pró-inflamatórias ocorre, também, nas pré-eclâmplicas, uma ativação periférica dos leucócitos circulantes, capazes de desencadear uma resposta inflamatória excessiva²⁸. Evidências clínicas demonstram uma ativação e aumento nos leucócitos periféricos durante a gravidez fisiológica com marcante elevação na expressão dos linfócitos CD11b²⁹.

Luppi et al (2006) estudaram a possibilidade dos leucócitos (monócitos) maternos, nas pré-eclâmplicas, produzirem citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8) e relata a síntese aumentada das mesmas durante o curso da doença.

A apoptose leucocitária é outro mecanismo possivelmente envolvido na síndrome etiopatogênica da PE. O fenômeno é comum na gravidez normal e encontra-se exaltado nas mulheres com PE e está provavelmente relacionado a uma condição heredo-familiar, pela predisposição individual de algumas mulheres, e igualmente relacionado a modificações nos neutrófilos após sua passagem pelo espaço intervilo e/ou suas modificações relacionadas a interações com certas citocinas³⁰.

Permanece incerto, entretanto, qual o gatilho para a ativação dos leucócitos nas pacientes pré-eclâmplicas, seja por passagem transplacentária, seja pelo fenômeno da apoptose ou pela ativação dos monócitos maternos periféricos³¹.

1.2.3 O estresse oxidativo na patogênese da pré-eclâmpsia

O estresse oxidativo pode ser o ponto para os quais os múltiplos fatores convergem resultando na disfunção endotelial e conseqüente manifestações clínicas da PE. Na vigência de uma má placentação, determinada por uma intolerância ao alo-enxerto, um pobre fluxo placentário se estabelece e este regime de hipóxia/isquemia placentária pode ser o motivo para a origem do estresse oxidativo³².

A PE está associada com uma forma clássica de aterosose aguda e esta alteração ocorre em regiões das artérias espiraladas, miometriais e nos capilares glomerulares renais, nos quais o fenômeno do remodelamento estrutural não ocorre

e depósitos de lipídeos se instalam desencadeando necrose fibrinóide na parede dos vasos, disfunção do endotélio, agregação plaquetária e acúmulo de macrófagos tomados de lipídeos³³.

Estudos em mulheres com PE, submetidas à cesareana e mesmo naquelas submetidas à curetagem uterina no pós-parto imediato, demonstram significativa deposição de hidroperóxidos de lipídeos, fosfolipídeos e colesterol na decídua basal³⁴.

A presença destas substâncias, notadamente de hidroperóxidos de lipídeos, *in vitro* são responsáveis por interferências na via enzimática da ciclo-oxigenase e determinam a elevada produção de tromboxane A₂, um potente vasoconstrictor e agregante plaquetário em detrimento da produção de prostaciclina vasodilatadora¹⁰. Por sua vez, a hipóxia placentária resulta, também, na produção do FNT- α responsável pelo aumento de ácidos graxos livres. A presença desta citocina amplifica a injúria endotelial pela mobilização/estimulação mitocondrial e neutrofílica e pela liberação de radicais livres na circulação sistêmica³⁵.

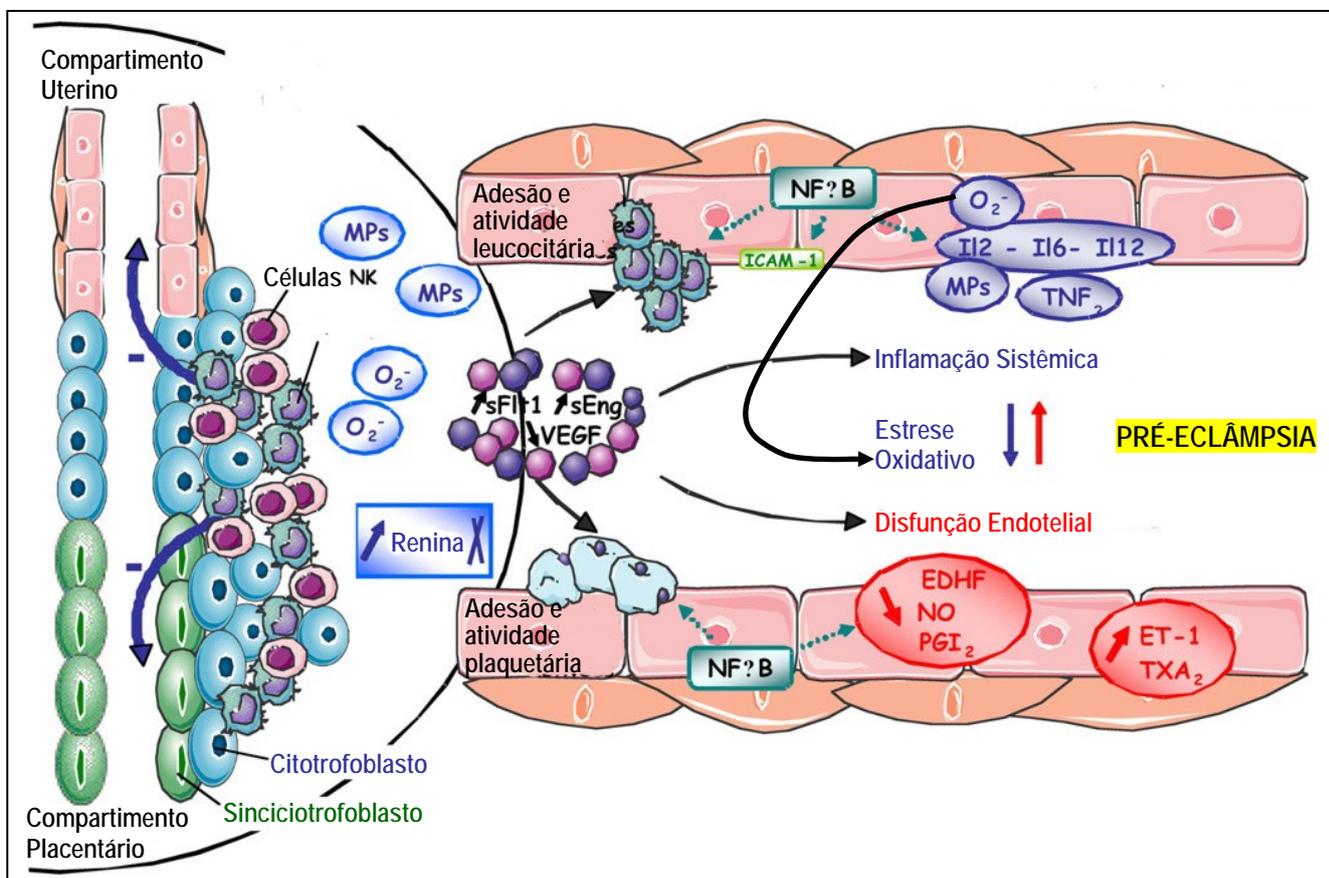


FIGURA 1: Efeitos de uma má placentação sobre o sistema vascular materno-placentário. Fonte: Adaptado de Meziani et al. (2007, p. 3).

1.2.4 A pré-eclâmpsia e as infecções

Em algumas circunstâncias a condição patológica que determina a morte materna por PE é uma forma particular de resposta inflamatória – a reação de Shwartzman. Esta condição está associada a uma cascata de eventos semelhantes à sepsis e assemelha-se às manifestações observadas em animais de experimentação nos quais são administrados endotoxinas, caracterizada pelo surgimento de hipertensão arterial e proteinúria³⁶.

Estudos apontam a incidência de bacteriúria assintomática maior em mulheres pré-eclâmplicas (19%) quando comparadas àquelas não acometidas pela doença,³⁷ revelam a incidência de infecção do trato urinário como um forte fator de risco para o desenvolvimento da PE e eclâmpsia³⁸ e crescentes evidências referem-se às doenças periodontais como mais associadas à doença hipertensiva da gestação e resultados adversos perinatais.³⁹ Há significativa diferença entre as mulheres acometidas pela doença dentária e a pré-eclâmplicas quando comparadas às mulheres saudáveis. Cerca de 82% delas possuíam a doença periodontal na forma grave e apenas 37% das mulheres saudáveis estavam acometidas ($p = 0,009$).³⁹

Dentre os fatores ambientais implicados, deve-se salientar a maior incidência da PE nos países em desenvolvimento e maior prevalência das infecções sub-clínicas nestes países, possivelmente agindo como gatilhos para o desencadear da doença⁴⁰.

Não como hipótese única, mas associativa, admite-se que a presença de infecções sub-clínicas crônicas podem elevar os níveis de citocinas inflamatórias e afetar a função endotelial vascular⁴¹.

Admite-se que dentro dos múltiplos fatores determinantes que convergem para um dano endotelial sistêmico, estejam, as infecções, na gestação humana, implicadas como gatilhos que favorecem o excessivo desequilíbrio inflamatório, como visto nas síndromes de respostas inflamatórias.

1.3 Referências

01. THE National High Blood Pressure Education Program Working Group On High Blood Pressure in Pregnancy. NIH Publication. 2000; n. 00-3029.
02. Savvidou, M. D. et al. Levels of C-reactive protein in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaeco.* 2002; v. 109, p. 297-301.
03. Rezende, J. *Obstetrícia.* 2002; 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara.
04. Walker J. J. Pre-eclâmpsia. *Lancet.* 2000; v.356, n. 9237, p. 1260-1265.
05. World Health Organization. *Maternal mortality in 2000: estimates developed by WHO, UNICEF and UNFPA.* 2004; Geneva.
06. Khan, K. S. et al. World Health Organization: analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet.* 2006; v. 367, n. 9516, p.1066-1074.
07. Laurenti, R; Mello Jorge, M. H. P; Gotlieb, S. L. D. Mortes Maternas no Brasil: Análise do preenchimento de variável da Declaração de Óbito. *Informe Epidemiológico do SUS.* 2000; v. 9, p. 43-50, jan.-mar.
08. Laurenti, R; Mello Jorge, M. H. P; Gotlieb, S. L. D. Mortalidade em mulheres de 10 a 49 anos com ênfase na Mortalidade Materna. In: SIMÕES, C. *Saúde no Brasil: conceitos, programas e indicadores.* IBGE, 2004; CD-ROM.
09. Sharma, A; Satyam, A; Sharma, J. B. Leptin, IL-10 and Inflammatory Markers (TNF- α , IL-6 and IL-8) in Pre-eclamptic. Normotensive Pregnant and Healthy Non-pregnant Women. *Am J Reprod Immunol.* 2007; v. 58, p. 21-30.
10. Redman, C. W. G.; Sacks, G. P.; Sargent, I. L. Preeclampsia: An excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1999; v. 180, n. 2, p. 499-506.
11. Roberta, B. N. Roberts, J. M. Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: A hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol.* 1996; v. 175, p. 1365-70.
12. Sibai, B.; Dekker, G.; Kupferminc, M. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2005; v. 365, p. 785-99.
13. Schiessl, B. Inflammatory response in preeclampsia. *Molecular Aspects of Medicine,* 2007; v. 28, p. 210-219.
14. Koch, C. A; Platt, J.L. Natural mechanisms for evading graft rejection: the fetus as an allograft. *Springer Semin. Immunopathol.* 2003; v. 25, n. 2, p. 95-117.
15. Saito, S; Sakai, M. Th1/Th2 balance in preeclampsia. *J. Reprod. Immunol.* 2003; v. 59, n.2, p. 161-172.

16. Le Bouteiller, P. HLA-G in the human placenta: expression and potential functions. *Biochem. Soc. Trans.* 2000; v. 28, n. 2, p. 208-212.
17. Sargent, I. L.; Borzychowski, A. M.; Redman, C. W.; NK cells and human pregnancy-an inflammatory view. *Trends Immunol.* 2006; v. 27, n.9, p. 399-404.
18. McKay, D. G. et al. The pathologic anatomy of eclampsia, bilateral renal cortical necrosis, pituitary necrosis and other acute fatal complications of pregnancy and its possible relationship to the generalized Shwartzman phenomenon. *Am J Obstet Gynecol.* 1953; v. 66, p. 507-539.
19. Robbins, S. L.; Cotran, R. S. Bases patológicas das doenças. Rio de Janeiro: 2005; Elsevier.
20. Muller, W. A. Leukocyte-endothelial cell interactions in the inflammatory response. *Lab Invest.* 2002; v. 82, p. 521.
21. Kupfermanc, M. J. et al. Immunoreactive tumor necrosis factor-alpha is elevated in maternal plasma but undetected in amniotic fluid in the second trimester. *Am J Obstet Gynecol.* 1994; v. 171, p. 976-979.
22. Al Othman, S. et al. Differential levels of interleukin-6 in maternal and cord sera and placenta in women with pre-eclampsia. *Gynecol Obstet Invest.* 2001; v. 52, p. 60-65.
23. Peraçoli, J. C.; Rudge, M. V. C.; Peraçoli, M. T. S. Tumor Necrosis Factor-alpha in Gestation and Puerperium of Women with Gestational Hypertension and Pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol.* 2007; v. 57, n. 3, p. 177.
24. Meziani, F. et al. De la toxémie gravidique à l'éclampsie: physiopathologie. *J Reaurg.* 2007; v. 10, p. 1016.
25. Benyo, D. F. et al. Expression of inflammatory cytokines in placentas from women with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; v. 86, n. 6, p. 2505-2512.
26. Rein, D. T. et al. Preeclamptic women are deficient of interleukin-10 as assessed by cytokine release of trophoblast cells in vitro. *Cytokine.* 2003; v. 23, n. 4-5, p. 119-125.
27. Luppi, P.; Deloia, J. A. Monocytes of preeclampsia women spontaneously synthesize pro-inflammatory cytokines. *Clin Immunol.* 2006; v. 118, p. 268-275.
28. Roberts, J. M.; Lain, H. Y. Recent insights into the pathogenesis of pre-eclampsia. *Placenta.* 2002; v. 23, p. 359-372.
29. Roberta, B. N.; Roberts, J. M. Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: a hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol.* 1996 ;v.175, p. 1365-70.

30. Bretelle, F. et al. Avancées dans physiopathologie de la pré-éclampsie: place de la réponse inflammatoire. *Gynecologie Obstetrique & Fertilité*. 2004; v. 32, p. 482-489.
31. Sargent, I. L.; Borzychowski, A. M; Redman, C. W. Nk cells and human pregnancy-an inflammatory view. *Trends Immunol*. 2006; v. 27, n. 9, p. 399-404.
32. Hubel, C. A. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Preeclampsia. *Society for Experimental Biology and Medicine*. 1999; v. 222, p. 222-35.
33. Sibai, B.; Dekker, G; Kupferminc, M. Pre-eclampsia. *Lancet*. 2005; v. 365, p. 785-99.
34. Dewolf, F. et al. The ultrastructure of acute atherosclerosis in hypertensive pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1975; v. 123, p. 164-174.
35. Benyo, D. F. et al. Hypoxia stimulates cytokine production by villous explants from the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; v. 82, p. 1582-1588.
36. Christopher, W. G. et al. Preeclampsia: An excessive maternal inflammatory response to pregnancy. From the Nuffield Department of Obstetrics and Gynaecology, University of Oxford. *Am J Obstet Gynecol*. 1999; v. 180, n. 2, p. 499-506.
37. Hill, J. A.; Devoe, L. D.; Bryans Jr, C. I. Frequency of asymptomatic bacteriuria in preeclampsia. *Obstet. Gynecol*. 1986; v. 67, p. 529-532.
38. Mittendorf, R.; Lain, K.Y.; Williams, M.A. Preeclampsia. A nested, case-control study for risk factors and their interactions. *J Reprod Med*. 1996; v. 41, p. 491-496.
39. Kunnen, A. et al. Women with a recent history of early-onset pre-eclampsia have a worse periodontal condition. *J Clin Periodontol*. 2007; v. 34, p. 202-207.
40. WHO. Technical Report Series. The hypertensive disorders of pregnancy. Geneva, 1987.
41. Herrera, J. A.; Chaudhuri, G.; López-Jaramillo, P. Is infection a major risk factor for preeclampsia? *Medical Hypotheses*. 2001; v. 57, n.3, p. 393-397.

ARTIGO II - ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS E PRÉ-ECLÂMPsia

PRÉ-ECLÂMPسيا: UMA SÍNDROME CLÍNICA DE CAUSAS HETEROGÊNEAS

Moisés Diôgo de Lima¹
Olímpio Barbosa de Moraes Filho²

Local da Pesquisa
Hospital Universitário Lauro Wanderley – Universidade Federal da Paraíba
Instituto Cândida Vargas – Secretaria de Saúde de João Pessoa

Endereço para correspondência
Moisés Diôgo de Lima
Endereço: R. Geraldo Costa 745, Apto 402 – Manaíra – CEP: 59038-131
João Pessoa – Paraíba – Brasil
Telefones: 55 (83) 3247-2624 / 55 (83) 9996-1501
e-mail: drmoiseslima@gmail.com

Olimpio Barbosa de Moraes Filho
R. Visconde de Mamanguape S/N – Encruzilhada – CEP: 52030-010
Recife - Pernambuco – Brasil
Telefone: 55 (81) 3182-7749 / 55 (81) 9615-2188
e-mail: olimpiomoraes@yahoo.com.br

¹ Professor do Departamento de Obstetrícia e Ginecologista da Universidade Federal da Paraíba e Obstetra do Serviço de Obstetrícia do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba, Mestre em tocoginecologia pela Universidade de Pernambuco.

² Professor-Doutor da Disciplina de Obstetrícia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Pernambuco.

RESUMO

TÍTULO: ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS E PRÉ-ECLÂMPRIA

OBJETIVO: Mensurar os marcadores inflamatórios como o fator de necrose tumoral-alfa (FNT- α), Interleucina-6 (IL-6) e proteína C-reativa (PCR) presentes em mulheres com pré-eclâmpsia (grupo doença), mulheres grávidas saudáveis (grupo-controle) e analisar as características dos testes. **MÉTODOS:** Foram incluídas 41 mulheres no grupo doença e 40 mulheres grávidas normotensas. A PCR foi mensurada por um ensaio imunoturbidimétrico e o FNT- α sérico e a IL-6, foram mensurados por um ensaio quimioluminescente. O teste ANOVA e o teste Mann-Whitney (análise não paramétrica de variâncias) foram usados para análises estatísticas. Foram analisados os valores da média, mediana e características específicas dos testes. **RESULTADOS:** Foram encontrados altos valores de PCR em mulheres pré-eclâmplicas, mediana de 6,7mg/dl, comparadas com as mulheres grávidas normais, mediana de 4,2mg/dl ($p=0,000$). O FNT- α foi significativamente elevado em mulheres com pré-eclâmpsia, mediana de 19,6pc/ml, em relação ao grupo controle, mediana de 13,7pc/ml ($p=0,003$). Os níveis de IL-6 foram significativamente altos em mulheres pré-eclâmplicas, mediana de 6,9pc/ml, em comparação com grávidas normais, mediana de 2,1pc/ml ($p=0,000$). Houve significativa correlação de linearidade entre o FNT- α e IL-6 ($p<0,001$). Foi criada uma curva de normalidade para cada grupo específico em questão. Os testes mostraram diferentes resultados para sensibilidade e especificidade Para a PCR a sensibilidade foi de 48,7%, especificidade de 85%, VPP de 76%, VPN de 48%, RV+ de 3,2, RV- de 0,6% Índice de Youden de 0,33. Para o FNT- α a sensibilidade foi de 68,27%, especificidade de 70%, VPP de 69%, VPN de 66%, RV+ de 2,2, RV- de 0,4% Índice de Youden de 0,4. Para IL-6 a sensibilidade foi de 90%, especificidade de 80%, VPP de 82%, VPN de 88%, RV+ de 4,5, RV- de 0,1% Índice de Youden de 0,7. **CONCLUSÃO:** Fica claro que, neste estudo de corte transversal, houve significante presença de atividade inflamatória sem, entretanto, ser possível afirmar se é, como se imagina, causa ou consequência do fenômeno. Sugere-se um estudo longitudinal e prospectivo para reforçar os resultados desta pesquisa.

Palavras-chave: Pré-eclâmpsia; Etiopatogenia; Fisiopatologia; Marcadores Inflamatórios

ABSTRACT**TITLE: ASSOCIATION AMONG INFLAMMATORY MARKERS AND PREECLAMPSIA.**

OBJECTIVE: measure the inflammatory markers as tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), Interleukin-6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) in women with pre-eclampsia (disease group), and pregnant women healthy (control group) and analyze the characteristics of tests. **METHODS:** It has included 41 women in the disease group and 40 normotensive pregnant women in the control group. The CRP was measured by immunoturbidimetry assay and IL-6 and serum TNF-alpha by chemiluminescent assay. The ANOVA and Mann-Whitney test (non-parametric analysis of variance) were used for statistical analysis. We analyzed the values of mean, median and characteristics of the tests. **RESULTS:** We found high levels of CRP in women pre-eclampsia, median of 6.7 mg / dl, as compared with normal pregnant, median of 6.7 mg / dl ($p = 0,000$). TNF-alpha was significantly higher in women with pre-eclampsia, median of 19.6 pc / ml and in the control group, median of 13.7 pc / ml ($p = 0,003$). The levels of IL-6 were significantly higher in women pre-eclâmplicas, median of 6.9 pc / ml, as compared with normal pregnant women, median of 2.1 pc / ml, ($p = 0,000$). There was significant correlation of linearity between the FNT-alpha and IL-6 ($p < 0,001$). There was not strong correlation of linearity between of PCR and TNF-alpha and IL-6. It has been created a curve of normality for each specific groups in question. The tests showed different results for sensitivity and specificity. For PCR the sensitivity was 48.7%, specificity 85%, PPV of 76%, NPV of 48%, PLR of 3.2, 0.6% of NLR and Youden index of 0.33. For the TNF-alpha sensitivity was 68.27%, specificity 70%, PPV of 69%, NPV of 66%, PLR of 2.2, 0.4% of NLR and Youden index of 0.4. For IL-6 the sensitivity was 90%, specificity 80%, PPV of 82%, NPV of 88%, PLR of 4.5, 0.1% of NLR and Youden index of 0.7. **CONCLUSION:** It is clear that in this cross-sectional study there was significant presence of inflammatory activity without, however, be possible to state whether it is as we imagine, cause or consequence of the phenomenon. It has been suggested that a prospective longitudinal study to reinforce the results of this search.

Keywords: Preeclampsia; Etiology, Pathophysiology, inflammatory markers

2 ARTIGO ORIGINAL: ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS E PRÉ-ECLÂMPسيا

2.1 Introdução

A pré-eclâmpsia (PE) é uma síndrome clínica de etiologia desconhecida caracterizada por hipertensão arterial materna e proteinúria. Nas suas formas mais severas, está associada a trombocitopenia, coagulação intra-vascular disseminada e danos hepatocelulares^{1,2}.

A hipertensão arterial é definida como uma pressão sanguínea sistólica de 140 mmHg ou uma pressão sanguínea diastólica de 90 mmHg, em geral, surgindo após a 22^a semana gestacional em mulheres previamente normotensas. A proteinúria é estabelecida pela excreção de 300 mg ou mais de proteínas em 24 horas de observação. Quando a análise da perda protéica urinária em 24 horas não é possível a presença de 1 + (30 mg/dl), ou mais, em amostra isolada de urina é usualmente utilizada¹.

A incidência de PE nos Estados Unidos da América (EUA) é de 6 - 8% em todas as gestações. Em nosso meio, as cifras oscilam em torno de 9 – 10%³. Nas diabéticas acrescenta-se mais 4% de incidência e nas primíparas com gestação gemelar, acréscimo de 30%. Deve-se considerar, entretanto, que interferências de ordem geográfica, social, econômica e racial são responsáveis por uma elevação neste índice em até três vezes mais considerando algumas populações específicas⁴.

Não menos relevantes são os coeficientes de mortalidade materna encontrados nesta síndrome. A análise das causas das mortes maternas em revisão sistemática realizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) demonstrou que na África e Ásia a principal razão de morte foram os quadros hemorrágicos⁵. Na América Latina e Caribe o motivo principal dos óbitos foi a hipertensão arterial⁶.

No Brasil o índice de mortalidade materna passou de 51,9 em 1996 para 64,8 óbitos por 100 mil nascidos vivos em 1998. Em 2001, o resultado encontrado foi semelhante ao ano de 1996, com cerca de 50 mortes para 100 mil nascidos vivos. Sendo que entre as causas diretas, a pré-eclâmpsia e eclâmpsia foram as que mais se destacaram em todo o período, representando 18,7% das ocorrências letais^{7,8}. Apesar dos recentes progressos nos conhecimentos imunobiológicos a pré-

eclâmpsia também, mantêm-se responsável por cerca de 40% dos partos prematuros⁹.

Há décadas inúmeras teorias vêm sendo propostas para explicar a gênese da pré-eclâmpsia. Até o momento nenhuma delas foi aceita de forma definitiva. Tem-se dado ênfase a uma excessiva resposta inflamatória a fim de caracterizar um dos possíveis mecanismos na etiopatogenia da pré-eclâmpsia, em geral, associados aos fenômenos imunológicos, a ativação do sistema de complemento e dos leucócitos sanguíneos, culminando com um quadro de exacerbação inflamatória característica de uma disfunção endotelial sistêmica¹⁰.

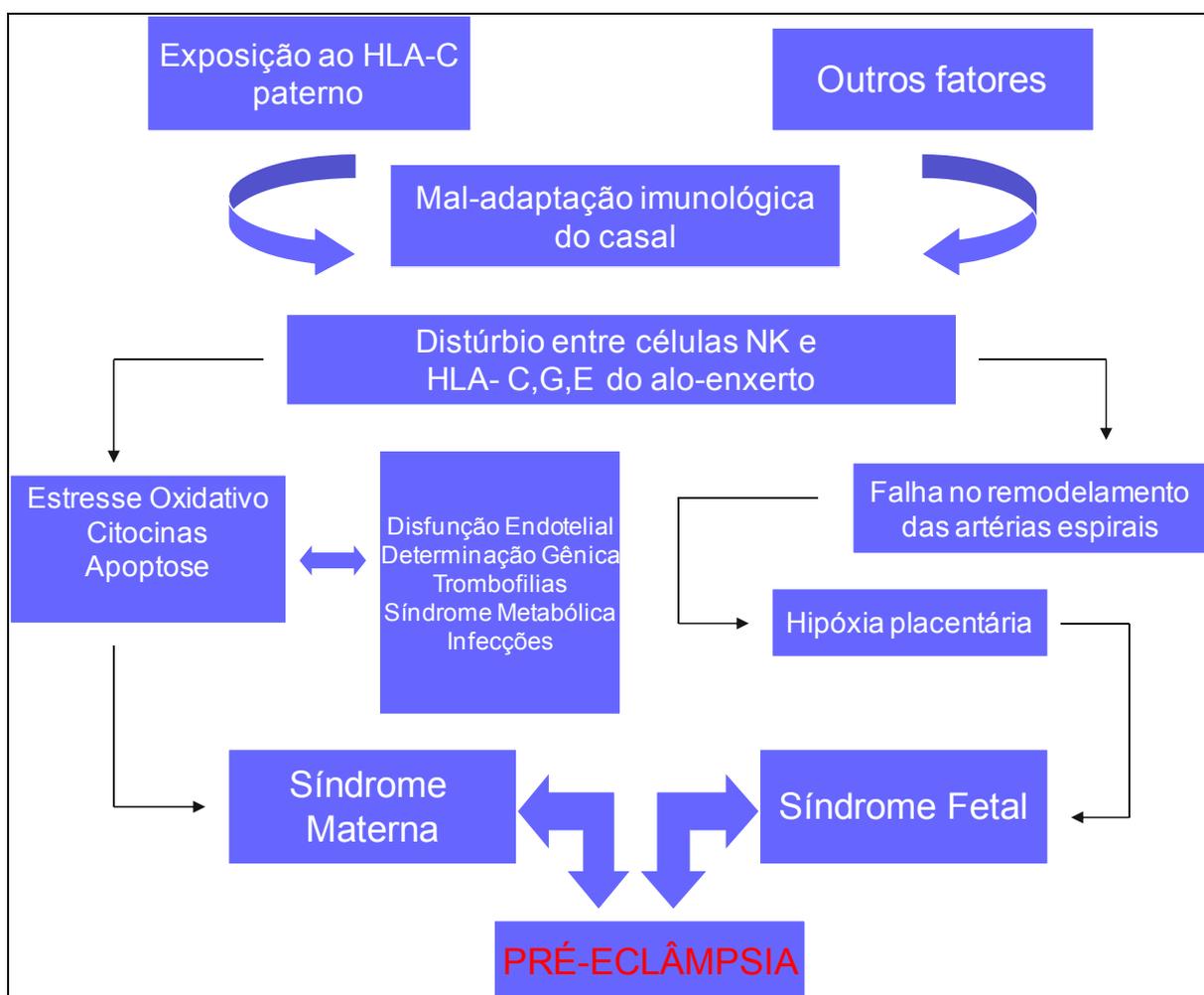


FIGURA 2: Esquema hipotético da etiopatogênico da pré-eclâmpsia.
Fonte: Adaptado de Sibai (2005, p. 788).

Grande parte destes achados patológicos também são descritos na chamada síndrome da resposta inflamatória sistêmica, semelhante àquela encontrada na reação de Shwartzman, uma forma particular de resposta inflamatória a endotoxinas bem caracterizada, desde longa data, nos quadros sépticos e em animais de experimentação¹¹.

A perturbação do sistema imune é um fator primordial no contexto da resposta inflamatória da PE. É necessário salientar que a mobilização leucocitária representa uma forma de resposta inflamatória “estéril”, desenvolvida pela própria gravidez, e, não necessariamente, uma resposta mediada por infecção¹⁴. A gênese do processo de inflamação é um dramático aumento na mobilização e expressão de moléculas na superfície do tecido endotelial. Este mecanismo é responsável por uma cascata de eventos que culmina com a adesão dos leucócitos sanguíneos ao local da injúria inicial que, a princípio local, pode generalizar-se e envolver completamente o compartimento vascular, como em uma sepse^{15,16}. Um dos mecanismos envolvidos é mediado pelos macrófagos tissulares, mastócitos e células endoteliais que respondem aos agentes lesivos com a secreção de citocinas, sendo as principais: o Fator de Necrose Tumoral α e β (TNF), Interleucina-1 (IL-1), entre outras, como IL-6 e IL-8 e quimocinas (citocinas quimiotáticas)¹⁶.

O comportamento da proteína C-reativa (PCR) na gestação apresenta poucos estudos. Situações clínicas agudas, tais como as infecções, processos inflamatórios ou destruição tecidual permitem sua rápida elevação sérica. As tentativas de associação entre a pré-eclâmpsia e as dosagens séricas de PCR são ainda incipientes e conflitantes²⁷. Como marcador da inflamação sistêmica admite-se que a PCR encontre-se elevada na pré-eclâmpsia^{28,29,30,31}.

O presente trabalho tem por objetivo mensurar os marcadores inflamatórios (PCR, FNT- α e IL-6) em mulheres acometidas pela síndrome pré-eclâmpsica e gestantes normotensas e avaliar o nível de significância estatística entre os grupos.

A amostra de estudo selecionada foi uma população de mulheres grávidas do município de João Pessoa-Paraíba-Brasil.

2.2 Método

Trata-se de um estudo quantitativo, de campo, prospectivo, analítico e de corte transversal com análise das características dos testes diagnósticos.

A população de estudo foi composta por mulheres grávidas alocadas em dois grupos, sendo um deles composto por 41 mulheres grávidas com diagnóstico clínico-laboratorial de pré-eclâmpsia (grupo-doença), considerado o padrão ouro de análise e outras 40 mulheres grávidas saudáveis consideradas controles (grupo-controle). O cálculo do tamanho amostral fundamentou-se na análise da diferença de médias dos marcadores inflamatórios entre dois grupos, obtidos através de estudos prévios em outras populações, conforme as pesquisas de Sharma, A; Satyam, Q.A; Sharma, J. Leptin, IL-10 and Inflammatory Markers (TNF- α , IL-6 and IL-8) in Pré-eclamptic, Normotensive Pregnant and Healthy Non-pregnant Women. Am. J. Reprod Immunol. 2007; v. 58, p. 21-30. e Cabral, A. C.; Lázaro, J. F.; Vitral, Z. N. R. Concentração Sérica Materna da Proteína C Reativa em Gestações Complicadas pela Pré-eclâmpsia. RBGO. 2002; n. 24, v.1, p. 9-13. As diferenças das médias dos marcadores FNT- α , IL-6 e PCR, foram aplicados no programa estatístico OPENEPI-2005, admitindo-se um intervalo de confiança de 95% e um *power* de 80% para obtenção do η amostral.

O grupo-doença, mulheres com diagnóstico da PE, foi estabelecido conforme recomendações do National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy, 2000 (NHBP, 2000), sendo este o critério básico de inclusão na amostra de estudo. Para tal considerou-se a PE como sendo o surgimento de hipertensão arterial materna após a 22^a semana gestacional de no mínimo 140mmHg na pressão sistólica ou 90mmHg na pressão diastólica, em mulheres previamente normotensas e a presença de proteinúria maior que 0,3g/24h ou a presença de 1 + (30mg/dl) ou mais – proteinúria de fita - em amostra isolada de urina. O grupo controle foi composto por mulheres grávidas normotensas, selecionadas na perspectiva da mesma idade gestacional do grupo-doença, por ocasião da inclusão. Os critérios de exclusão foram a presença de doenças clínicas inflamatórias agudas ou crônicas, malformações fetais e fumantes. A seleção dos sujeitos se deu por conveniência no momento em que todas tiveram o diagnóstico firmado pelo próprio pesquisador, seja de normalidade ou de doença. A pesquisa desenvolveu-se entre os meses de abril a agosto de 2008, envolvendo

duas instituições hospitalares do sistema único de saúde (SUS) referências para alto e baixo risco gestacional e foi submetida à aprovação pelo comitê de ética em pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba. Após obtido o consentimento informado foi feita a devida seleção dos sujeitos. Das mulheres selecionadas coletou-se cerca de 10ml de sangue periférico, todas no período pré-natal, as amostras foram centrifugadas e aliquotadas em duplicata a -30° . Ao final da coleta foram submetidas a medições dos marcadores inflamatórios relacionados, através de um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente (FNT- α e IL-6) e imunoturbidimetria (PCR).

Os dados foram plotados nos *softwares* estatístico EPI INFO versão 3.3.2 e MEDCALC versão 10.0 e submetidos à análise de possível distribuição Normal ou não e averiguação de significância entre os grupos. Os testes para análise das médias e medianas empregados foram, respectivamente ANOVA e Mann-Whitney .

2.3 Resultados

A idade média no grupo PE foi de 23,0 anos ($\pm 5,8$) e no grupo-controle a média foi de 25,4 anos ($\pm 6,6$) com um p valor não significativo. A idade materna mínima no grupo doença foi de 13,0 anos e a máxima 38,0 anos. Para o grupo controle a idade materna mínima foi de 13,0 anos e a máxima de 38,0anos. A idade gestacional por ocasião da seleção foi de 31,7 semanas ($\pm 4,3$) no grupo PE e de 31,2 semanas ($\pm 3,7$) no grupo-controle. Para esta variável também não se observou significância estatística e a idade gestacional mínima no grupo doença foi de 22,0 semanas e a máxima de 40,6 semanas. No grupo controle a idade gestacional mínima foi de 25,0 semanas e a máxima 38,0. A variável gesta foi analisada a partir dos valores medianos uma vez que mostrou-se com significância estatística e o valor no grupo doença foi de 1,0 gestação e no grupo controle foi de 2,0 gestações. Os valores mínimos e máximo no grupo PE foi, respectivamente, 1,0 e 7,0 e no grupo controle de 1,0 e 6,0 gestações. O emparelhamento entre os grupos mostrou-se homogêneo para as características idade e semanas gestacionais. Estes dados podem ser conferidos na tabela 1.

Tabela 1. Características gerais no grupo com PE e no Grupo Controle

| | PE ($n= 41$) | GC ($n= 40$) | p valor |
|------------------------------------|----------------|----------------|---------|
| IDADE MATERNA (anos) | | | |
| Média / DP | 23,0/ 5,8 | 25,4/ 6,6 | 0,065 |
| Valor mínimo / máximo | 13,0/38,0 | 13,0/38,0 | |
| Percentil 25 / Percentil 75 | 19,0/26,0 | 21,0/30,5 | |
| IDADE GESTACIONAL (semanas) | | | |
| Média / DP | 31,5/ 4,3 | 31,2/ 3,7 | 0,669 |
| Valor mínimo / máximo | 22,0/40,6 | 25,0/38,0 | |
| Percentil 25 / Percentil 75 | 28,3/34,0 | 28,3/33,6 | |
| GESTA | | | |
| Mediana | 1,0 | 2,0 | 0,021 |
| Valor mínimo / máximo | 1,0/7,0 | 1,0/6,0 | |
| Percentil 25 / Percentil 75 | 1,0/2,0 | 1,0/3,5 | |

FONTE: Pesquisa direta.

PE = Pré-eclâmpsia, GC = Grupo Controle, DP = Desvio Padrão

Os valores isolados da média e mediana foram submetidos à análise de significância estatística entre os grupos observando-se um padrão de variância não homogênea, optando-se desta forma pelo teste de avaliação não paramétrica de Mann-Whitney (Kruskal-Wallis). Os valores das medianas, os valores máximos e mínimos encontrados, assim como, os percentis 25 e 75, são descritos a seguir e demonstrados na tabela 2.

Para a variável PCR no grupo doença obteve-se uma mediana de 6,7 com um valor mínimo de 0,30 e máximo de 76,2mg/dl. O percentil 25 foi de 4,4 e 75 de 12,5mg/dl. No grupo controle a mediana situou-se em 4,2 com um valor mínimo de 0,20 e um máximo de 13,3mg/dl. O percentil 25 foi de 2,4 e o 75 de 6,2. O valor de p foi significativo e menor que 0,05. O FNT- α comportou-se no grupo PE com uma mediana de 19,6pg/mL, valor mínimo e máximo de 6,6pg/mL e 126,0pg/mL, respectivamente. O valor no percentil 25 foi de 15,8pg/mL e no percentil 75 foi de 27,1pg/mL. O valor mediano no grupo controle foi de 13,7pg/mL, valor mínimo de 6,5pg/mL e máximo de 36,9pg/mL. Obteve-se no percentil 25 um valor de 9,1pg/mL e no 75 um valor de 18,3pg/mL. Os grupos comportaram-se com significância estatística observando-se um p valor de 0,000. A IL-6 mostrou-se significativamente diferente entre os grupos com um valor de p= 0,000. A mediana no grupo doença foi

de 6,9pg/mL, enquanto no grupo controle foi de 2,1pg/mL. Os valores mínimos e máximos foram nos grupos, respectivamente: 2,8pg/mL e 40,6pg/mL e 2,0pg/mL e 31,8pg/mL. O percentil 25 e 75 obteve no grupo PE os valores de 4,6pg/mL e 10,1pg/mL, e no grupo normotensas os valores de 2,0pg/mL e 2,9pg/mL.

Tabela 2. Valores de PCR, FNT- α e IL-6 nos grupos: PE e Grupo Controle

| | PE ($n= 41$) | GC ($n= 40$) | p valor |
|--|----------------|----------------|---------|
| PCR (mg/dl) | | | |
| Mediana | 6,7 | 4,2 | 0,003 |
| Valor mínimo / máximo | 0,30/76,2 | 0,20/13,3 | |
| Percentil 25 / Percentil 75 | 4,40/12,5 | 2,40/ 6,2 | |
| FNT-α (pg/mL) | | | |
| Mediana | 19,60 | 13,70 | 0,000 |
| Valor mínimo / máximo | 6,60/126,00 | 6,50/36,90 | |
| Percentil 25 / Percentil 75 | 15,80/ 27,10 | 9,10/18,30 | |
| IL-6 (pg/mL) | | | |
| Mediana | 6,90 | 2,1 | 0,000 |
| Valor mínimo / máximo | 2,80/40,60 | 2,00/31,80 | |
| Percentil 25 / Percentil 75 | 4,60/10,10 | 2,00/ 2,90 | |

FONTE: Pesquisa direta.

PE = Pré-eclâmpsia, GC=Grupo Controle, PCR=Proteína C-reativa, FNT- α =Fator de Necrose Tumoral-alfa, IL-6 = Interleucina-6

Um modelo de regressão linear foi utilizado a fim de verificar a correlação de linearidade entre os marcadores, com ênfase à análise entre aqueles de alto custo (FNT- α e IL-6) e de baixo custo (PCR). Foram aplicados métodos de transformação logarítmica para o cálculo da melhor equação que representasse esta correlação. Os modelos acham-se demonstrados nos gráficos 1, 2 e 3, abaixo.

Depreende-se dos resultados que apesar da associação significativa não houve correlação de linearidade entre a PCR e os demais marcadores, ambos com pobre correlação, cerca de apenas 2% entre a PCR e o FNT- α e cerca de 11% entre a PCR e a IL-6. Melhor tendência de linearidade foi observada entre o FNT- α e IL-6, cuja correlação foi de aproximadamente 26%.

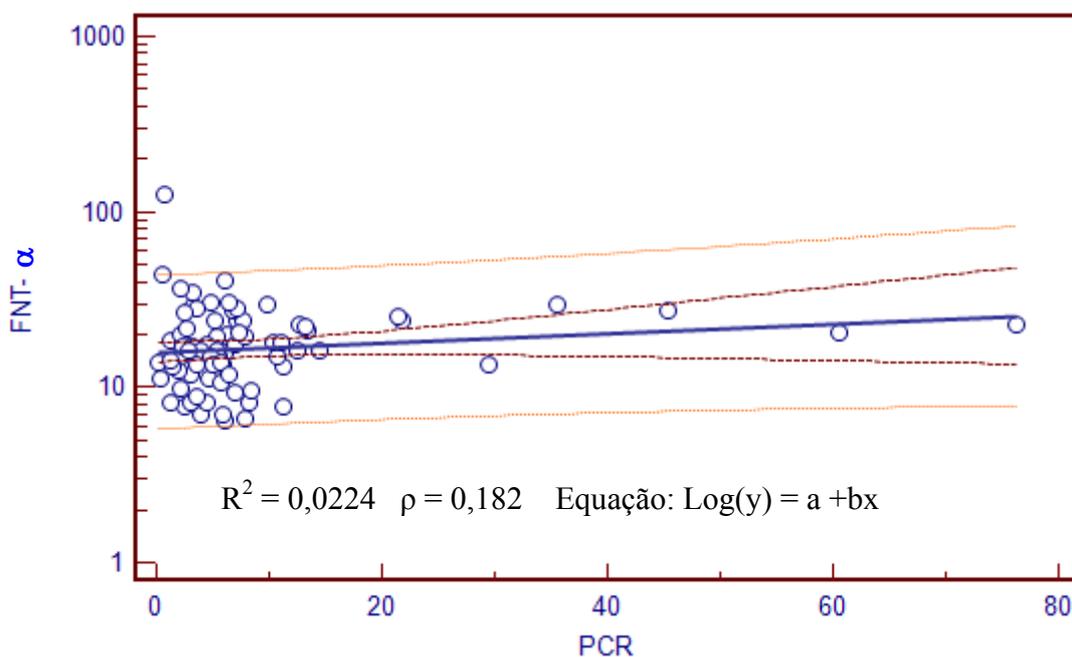


GRÁFICO 1: Modelo de regressão linear entre a PCR e FNT- α .

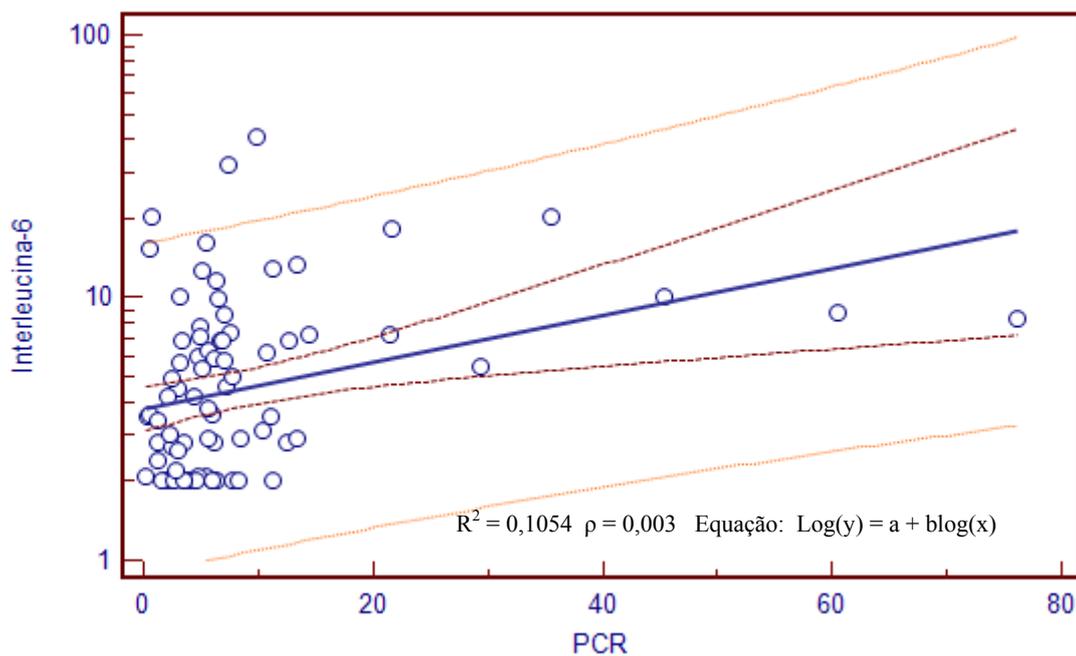


GRÁFICO 2: Modelo de regressão linear entre a PCR e IL-6

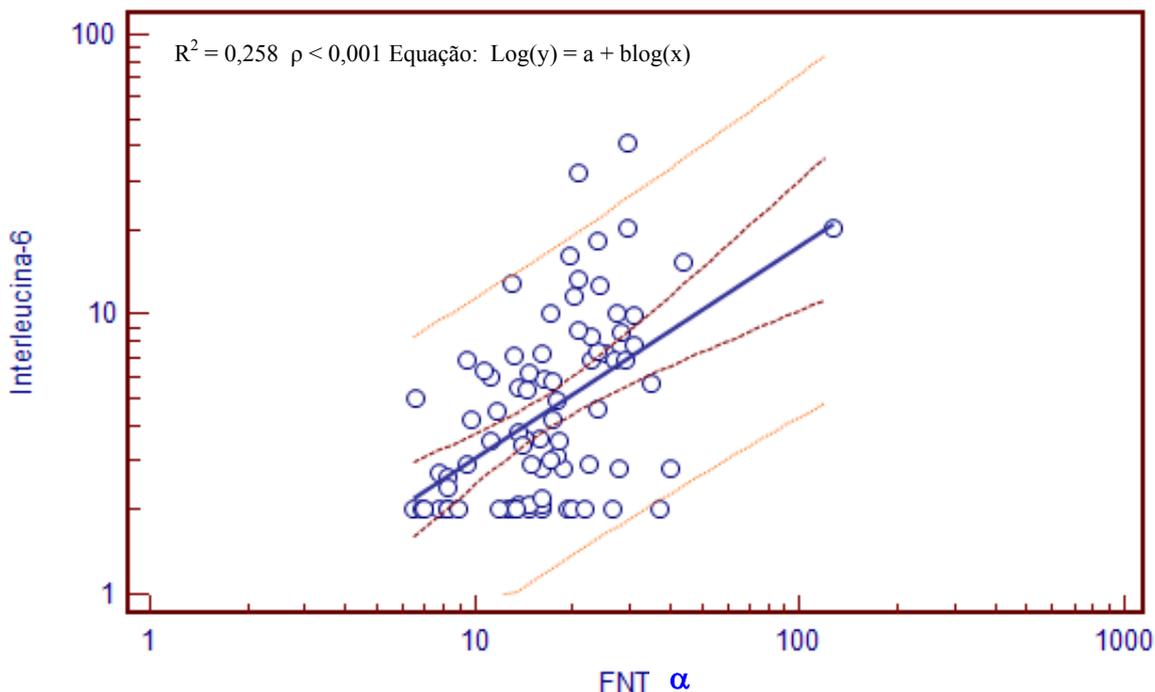


GRÁFICO 3: Modelo de regressão linear entre a IL-6 e FNT- α .

Para análise das características dos testes optou-se por utilizar pontos de corte a partir dos valores da *receiver operator characteristic curve* (ROC), curva ROC, obtidos pelo índice de Youden, que estipulou os seguintes valores: para a PCR: 7,0mg/dl, para FNT- α : 16,3pc/mL e 3,4pc/mL especificado para a IL-6. Tomando-se por base os valores obtidos em nossa amostra de estudo e considerando como padrão-ouro a existência de doença no momento observado foram observadas as características dos testes quanto à sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo e razão de verossimilhança positiva e negativa. A característica do exame, quanto a sua capacidade diagnóstica e utilidade clínica, foi estabelecida pelo índice de Youden³⁵. Estes dados podem ser conferidos na figura 2 e tabela 3.

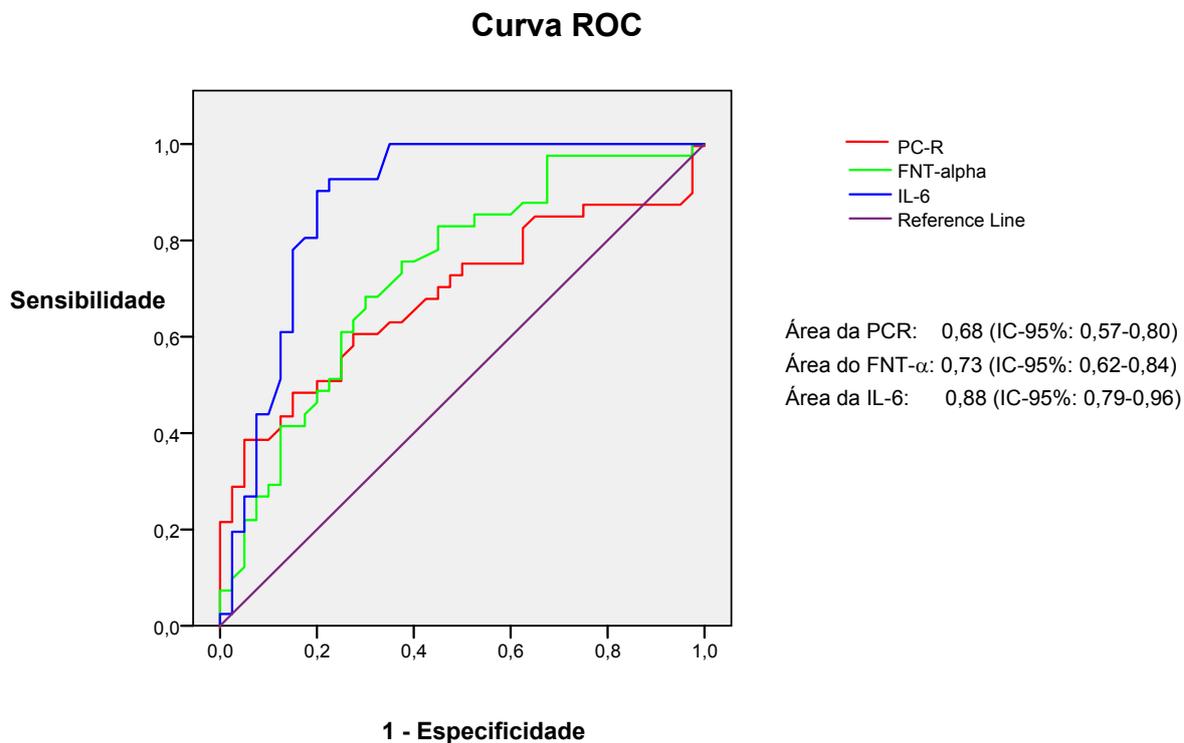


FIGURA 2: Representação gráfica da curva ROC, suas áreas e intervalos de confiança.

TABELA 2: Características dos testes diagnósticos.

| | Sensibilidade | Especificidade | VPP | VPN | RV+ | RV- | IY |
|--------------------------------|----------------------|-----------------------|------------|------------|------------|------------|-----------|
| IL-6 | 90,0% | 80,0% | 82,0% | 88,0% | 4,5 | 0,1 | 0,70 |
| FNT-α | 68,2% | 70,0% | 69,0% | 66,0% | 2,2 | 0,4 | 0,40 |
| PCR | 48,7% | 85,0% | 76,0% | 48,0% | 3,2 | 0,6 | 0,33 |

FONTE: Pesquisa direta.

VPP = Valor Preditivo Positivo, VPN = Valor Preditivo Negativo, PCR = Proteína C-reativa, FNT- α = Fator de Necrose Tumoral-alfa, IL-6 = Interleucina-6, RV+ = Razão de Verossimilhança Positivo, RV- = Razão de Verossimilhança negativo. IY = Índice de Youden

2.4 Discussão

Entre os fatores envolvidos no surgimento da PE, os mecanismos inflamatórios, são o centro do entendimento do fenômeno que vai da placentação adequada, às modificações sistêmicas, notadamente as hemodinâmicas, que caracterizam a gravidez¹¹.

Considerando o mecanismo inflamatório como uma excessiva resposta inflamatória sistêmica, responsável pelas manifestações clínicas observadas na PE, procurou-se analisar os níveis dos marcadores inflamatórios (PCR, FNT- α e IL-6) de modo observacional nesta população específica. Os grupos foram compostos de forma homogênea, de tal forma, que não apresentaram diferença estatística, especialmente no que diz respeito à idade gestacional, no momento em que foram avaliadas.

Partindo da hipótese da existência de uma atividade inflamatória exacerbada os dados obtidos em nosso estudo demonstram nítida elevação dos marcadores inflamatórios nestas amostras populacionais específicas.

Estes achados de atividade imune-inflamatória são consistentes com vários outros citados na literatura, tais como os de Greer et al (1994)³⁶, Vince et al. (1995)³⁷, Kupferminc et al. (1996)¹⁸, Teran et al. (2001)²⁹, Cabral et al. (2002)²⁷ e Sharma et al. (2007)⁹.

Cabral et al (2002)²⁷ fez referências importantes com relação à PCR como um marcador inflamatório na PE. Seus resultados demonstraram uma média de PCR em torno de 18,9(\pm 4,9mg/L), com relevante nível de significância entre os grupos estudados. Da mesma forma relata Teran et al (2001)²⁹ em sua pesquisa. García et al (2007)³¹, Qiu et al (2004)³⁴ e Savvidou et al. (2002)² faz, entretanto, outras observações importantes quanto a PCR. Os estudos de García e Qiu analisaram a presença do marcador antes do surgimento da PE e concluem que a PCR esteve elevada de forma prévia à doença e, portanto, provavelmente possa ser preditiva para a doença. Para Savvidou não houve diferença estatística de relevância entre os grupos estudados.

A PCR é um sensível marcador da inflamação sistêmica e o único dos marcadores séricos que parece não sofrer alteração em sua concentração seja pela presença de hormônios ou agentes anti-inflamatórios²⁷. Esta pesquisa demonstra que as concentrações da PCR estiveram elevadas de forma significativa no grupo de

mulheres pré-eclâmplicas, quando comparadas ao grupo de normotensas. Sua distribuição na curva de norma diagnóstica (ROC), criada a partir do nosso banco de dados, permite inferir que os valores considerados como parâmetros de referência na literatura diferem, provavelmente por não se tratar de uma população específica, e devem, portanto, ser valorizados de forma diferente em decisões diagnósticas.

Observou-se também, uma associação de correlação linear do seu comportamento frente à Interleucina-6, porém, com baixo coeficiente de linearidade e muito menos relevante foi sua correlação frente ao comportamento do fator de necrose tumoral alfa. Sabe-se que a interleucina-6 é reguladora primária da PCR e este fato pode justificar nossa observação.

Quanto às características do teste pode-se inferir, a partir destes dados que, embora, o índice de Youden tenha se mostrado sofrível, enquanto probabilidade pós-teste, dependente da prevalência de uma determinada doença, as concentrações do marcador parecem elevadas antes mesmo do diagnóstico em pauta e isto correlaciona-se com dados da literatura que afirmam a elevação da PCR ainda no primeiro trimestre da gestação e, portanto, preditora da doença, conforme relatam Qiu et al. (2004)³⁴ e García et (2007)³¹. Esta informação obtida é precisa e de relevância clínica, pressupondo a existência de doenças infecciosas sub-clínicas prévias.

Quanto ao FNT- α parece que este responde pela orquestração das respostas inflamatórias. É responsável por sinais procedentes de células vivas ou mortas (apoptose) como um modulador multifuncional da resposta imune. Interfere na necessária invasão placentária, danifica o endotélio, dando origem ao estresse oxidativo, estimula a produção de IL-6. A presença do FNT- α deve ser interpretada com cautela, uma vez que, esta citocina acha-se presente mesmo em mulheres grávidas saudáveis, especialmente no terceiro trimestre, embora notadamente elevado em pré-eclâmplicas, Teran et al. (2001)²⁹.

Analisado em nossa pesquisa o FNT- α esteve elevado de forma clara no grupo de mulheres com pré-eclâmpsia. Os estudos de Sharma et al. (2007)⁹, Peraçoli et al. (2007)²⁰ e Teran et al. (2001)²⁹ demonstraram-se consistentes com os dados da presente pesquisa. A população de estudo, no trabalho de Afshari (2005)³⁸, entretanto, não demonstrou diferença significativa quanto a este marcador. Importante salientar que seus valores médios foram mais elevados que demonstrados neste trabalho e naqueles encontrados por Teran et al. (2001)²⁹.

Ressalta-se que, dos valores obtidos, houve uma significativa diferença em relação àqueles descritos na bula dos exames diagnósticos. Da mesma forma observou-se que em todos os trabalhos citados há também divergências quanto aos valores médios encontrados para ambos os grupos. Esta particularidade provavelmente está relacionada aos diferentes graus de resposta imunológica, seja de forma particular, ou no contexto de uma população específica de estudo.

Parece oportuno estabelecer, desta forma, os valores de *cut off* particulares a partir da distribuição dos mesmos na curva ROC específica. Para este marcador não foi observado correlação de linearidade com a PCR, por outro lado, nítida correlação foi determinada quando comparado a IL-6.

Suas características enquanto teste diagnóstico demonstra boa capacidade de discernimento entre verdadeiros positivos e negativos, respectivamente. Os valores preditivos são, entretanto, de difícil interpretação considerando a presença do marcador em situações de normalidade, conforme descreve Teran em seu trabalho, comparando a medida do mesmo entre mulheres não grávidas, grávidas saudáveis e grávidas acometidas pela síndrome. Enfatiza o autor sua extraordinária elevação nas pré-eclâmpicas, conforme seus resultados e que são semelhantes aos aqui encontrados. As razões de verossimilhança apontam, também, como mais discriminatório o *cut off* da curva ROC estabelecida. Depreende-se, portanto, que sua elevação está, em tese, condicionada a uma alteração endotelial como hipoteticamente aventado na base etiopatogênica e fisiopatológica da pré-eclâmpsia.

Também como modulador multifuncional da resposta imune a IL-6 é responsabilizada por bruscas mudanças na estrutura das células endoteliais, notadamente em sua permeabilidade. Pode ainda ser responsável pela diminuição na síntese de prostaciclina por inibição da ciclo-oxigenase, elevando de forma indireta a relação tromboxane A₂ / prostaciclina; pode estimular o fator de crescimento derivado da plaqueta e induzir a formação de radicais livre de oxigênio a partir das células endoteliais, apanágios clássicos da mulher pré-eclâmpica.

Mais uma vez, os trabalhos de Teran et al. (2001)⁹, Afshari et al. (2005)³⁸ e Sharma et al. (2007)⁹ também demonstraram nítida elevação desta citocina entre no grupo de mulheres com PE. Nesta pesquisa este marcador teve especial importância. Foi nitidamente mais elevado no grupo doença. Sua correlação de linearidade com o FNT- α foi também expressiva, observando-se elevada

sensibilidade e especificidade como teste diagnóstico, valor preditivo positivo e negativo, também elevados, mostrando-se, entre todos, o mais útil na identificação da atividade inflamatória induzida pela resposta endotelial, ratificado pela elevada razão de verossimilhança positiva quando comparado a verossimilhança negativa, fato ratificado pelo índice de Youden que entre todos mostrou-se como bom indicador diagnóstico.

2.5 Referências

01. THE National High Blood Pressure Education Program Working Group On High Blood Pressure in Pregnancy. NIH Publication. 2000; nº 00-3029.
02. SAVVIDOU, M.D. et al. Levels of C-reactive protein in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol.* 2002; v.109, p. 297-301.
03. REZENDE, J. OBSTETRÍCIA. 2002; Guanabara; 9 Ed. Rio de Janeiro.
04. WALKER, J. J. Pre-eclâmpsia. *Lancet.* 2000; v.356, n. 9237, p. 1260-1265.
05. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Maternal mortality in 2000: estimates developed by WHO, UNICEF and UNFPA. 2004; Geneva.
06. KHAN, K. S. et al. WORLD HEALTH ORGANIZATION: analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet.* 2006; v.367 n. 9516, p.1066-1074.
07. LAURENTI, R; MELLO JORGE, M. H. P; GOTLIEB, S. L. D. Mortes Maternas no Brasil: Análise do preenchimento de variável da Declaração de Óbito. *Informe Epidemiológico do SUS.* 2000; v.9 p.43-50, jan.-mar.
08. LAURENTI, R; JORJE, M. H. P. M; GOTLIEB, S. L. D. Mortalidade em mulheres de 10 a 49 anos com ênfase na Mortalidade Materna. In: SIMÕES, C. Saúde no Brasil, conceitos, programas e indicadores. 2004; IBGE, CD-ROM.
09. SHARMA, A; SATYAM, A; SHARMA, J. B; Leptin, IL-10 and Inflammatory Markers (TNF- α , IL-6 and IL-8) in Pre-eclamptic, Normotensive Pregnant and Healthy Non-pregnant Women. *Am J Reprod Immunol.* 2007;v.58, p. 21-30.
10. REDMAN, C.W.G.; SACKS, G.P.; SARGENT, I.L. Preeclampsia: An excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1999; v.180, n.2, p.499-506.
12. ROBERTA, B.N.; ROBERTS, J.M. Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: A hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol.* 1996; v.175, p.1365-70, 1996.

13. SIBAI, B; DEKKER,G.; KUPFERMINC, M. Pre-eclampsia. *Lancet*. 2005; v.365, p.785-99.
14. SARGENT, I.L.; BORZYCHOWSKI, A.M.; REDMAN, C.W. NK cells and human pregnancy-an inflammatory view. *Trends Immunol*. 2006; v.27, n.9, p.399-404.
15. MCKAY, D.G. et al. The pathologic anatomy of eclampsia, bilateral renal cortical necrosis, pituitary necrosis and other acute fatal complications of pregnancy and its possible relationship to the generalized Shwartzman phenomenon. *Am J Obstet Gynecol*.1953; v.66, p.507 – 539.
16. ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S. *Bases Patológicas das Doenças*. 2005; Rio de Janeiro: Elsevier.
17. Muller WA; Leukocyte-endothelial cell interactions in the inflammatory response. *Lab Invest*. 2002; p82:521.
18. Kupferminc, MJ; Peaceman, AM; Wigton, TR; et al ; Immunoreactive tumor necrosis factor-alpha is elevated in maternal plasma but undetected in amniotic fluid in the second trimester. *Am J Obstet Gynecol*. 1994; v.171, p.976-979.
19. Al Othman, S; Omu, AE; Diejomach, FM; et al ; Differential levels of interleukin-6 in maternal and cord sera and placenta in women with pre-eclampsia. *Gynecol Obstet Invest*. 2001; v.52, p.60-65.
20. Peraçoli, JC; Rudge, MVC; Peraçoli, MTS; Tumor Necrosis Factor-alpha in Gestation and Puerperium of Women with Gestational Hypertension and Pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 2007; v.57, n.3, p.177.
21. Meziani, F; Tesse, A; Asfar, P; et al; De la toxémie gravidique à l'éclampsie: physiopathologie. *J Reaurg*. 2007; v.10, p.1016.
22. Benyo, DF; Smarason, A; Redman, CW; et al. Expression of inflammatory cytokines in placentas from women with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; v.86, n.6, p.2505-2512.
23. Rein, DT; Breidenbach, M; Honscheid, B; et al: Preeclamptic women are deficient of interleukin-10 as assessed by cytokine release of trophoblast cells in vitro. *Cytokine*. 2003; v.23, n.4-5, p.119-125.
24. Luppi, P; Deloia, JA; Monocytes of preeclampsia women spontaneously synthesize pro-inflammatory cytokines. *Clin Immunol*. 2006; v.118, p.268-275.
25. Roberts, JM; Lain, HY; Recent insights into the pathogenesis of pre-eclampsia. *Placenta*. 2002; v.23, p.359-372.
26. Roberta, BN; Roberts, JM; Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: A hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol*. 1996; v.175, p.1365-70.

27. Cabral, ACV; Lázaro, JF; Vitral, ZNR. Concentração sérica materna da proteína C reativa em gestações complicadas pela pré-eclâmpsia. *RBGO*. 2002; v.24, n.1, p.9-13.
28. Ridker, PM; Glynn, RJ; Hennekens, CH; C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation*. 1998; v.20, p.2007-11.
29. Teran, E; Escudero, C; Moya, W; et al. Elevated C-reactive protein and pro-inflammatory cytokines in Andean women with pré-eclâmpsia. *Int J Gynaecol Obstet*. 2001; v.3, p.243-9.
30. Kumru, S; Godekmerdan, A; Kutlu, S; et al. Correlation of maternal serum high-sensitive C-reactive protein levels with biochemical and clinical parameters in preeclampsia. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2006; v.124, p.164-167.
31. García, RG; Celédon, J; Sierra-Laguado, J; et al. Raised C-reactive protein and impaired flow-mediated vasodilation precede the development of preeclampsia. *Am J Hipertens*. 2007; v.20, n.1, p.98-103.
32. Luthy, D; Williams, M; Zhang, C; et al. Elevated first trimester serum C-reactive protein and subsequent risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2001; v. 184, p.77.
33. Rebelo, I; Carvalho-Guerra, F; Pereira-Leite, L; et al. Comparative study of lactoferrin and other blood markers of inflammatory stress between preeclamptic and normal pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1996; v.64, p.167-73.
34. Qiu,C; Luthy,DA; Zhang,C; et al. A prospective study of maternal serum C-reactive protein concentrations and risk factor of preeclampsia. *AJH*. 2004; v.17, p.154-160.
35. OPAS, Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Métodos de investigação Epidemiológica em Doenças Transmissíveis. Brasília. 1997.182p.
36. Greer, IA; Lyall, F; Perera, T; et al; Increased concentrations of cytokines interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist in plasma of women with preeclampsia: a mechanism for endothelial dysfunction. *Obstet Gynecol*. 1994; v.84, p.937-940.
37. Vince, GS; Starkey, PM; Austgulen, R; et al; Interleukin-6, tumour necrosis factor and soluble tumour necrosis factor receptors in women with pre-eclâmpsia. *Br J Obstet Gynaecol*. 1995; v.102, p.20-5.
38. Afshari, J. T; Ghomian, N; Shameli, A; et al. Determination of Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor-alpha concentrations in Iranian-Khorasanian patients with preeclampsia. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2005; v.5, p.14.

2.6 Considerações Finais

A pré-eclâmpsia instiga e continuará instigando os pesquisadores. Pelo seu desconhecimento etiológico e suas mais variadas manifestações clínicas, permanece desafiando os protocolos de assistência à população.

De fato, parece muito razoável admitir, que múltiplos fatores desencadeantes acham-se envolvidos na PE. Muito provavelmente sua origem deva ser atribuída ao binômio materno-fetal, de onde se espera uma perfeita tolerância, mediada pelo determinismo genético, imunológico e inflamatório, necessários e essenciais à boa evolução gestacional.

A intolerância observada é, em hipótese, e assegurada em várias evidências científicas, à impossibilidade de adaptação materna ao feto, em especial, à placenta. Desta não adaptação resulta inúmeros efeitos adversos, locais e sistêmicos, que caracterizam a PE, seja nas suas formas mais leves, seja nas suas formas mais graves; ora com complicações potenciais para a mulher, ora para o concepto. A multiplicidade de teorias etiopatogênicas e formas clínicas é o que podemos chamar de *fatores heterogêneos constituintes de uma única forma: a síndrome pré-eclâmpsia*.

O provado é que, em vários estudos, além da hipertensão arterial e proteinúria, uma disfunção endotelial culmina com uma resposta inflamatória excessiva sistêmica. Esta base etiopatogênica e fisiopatológica explica as representações clínicas, semelhantes à reação Shwartzman, observada nas formas graves da doença onde o comprometimento da economia materna é difuso e grave.

Não basta pensar apenas em fundamentos teóricos. É preciso enxergar a PE também como uma doença social. Se é verdade que a resposta inflamatória é exarcebada na PE, porque não imaginar que fatores ambientais impróprios, comuns aos países em desenvolvimento, não participem como facilitadores desta síndrome de constituintes heterogêneos?

Estudos tem demonstrado uma maior incidência da doença exatamente onde incide com maior força as infecções sub-clínicas e partindo desta premissa é possível e aceitável hipotetizar que estas infecções dão origem ou precipitam as alterações fisiopatológicas vistas na PE.

Assim sendo, foi objetivo deste estudo observacional, quantificar marcadores inflamatórios em grupos distintos de pacientes grávidas e foi possível perceber com clareza uma nítida elevação desta atividade inflamatória no grupo de mulheres afetadas pela síndrome, mais ainda, estimar o quanto estes marcadores podem ser úteis no entendimento etiopatogênico e fisiopatológico da doença. De um modo geral depreende-se que os marcadores parecem sensíveis na detecção do fenômeno, particularmente a interleucina-6. As capacidades de predição positiva da doença são melhores avaliadas pelas medidas da PCR e Interleucina-6 e que particularmente, valores de referência, devem ser construídos em populações específicas e particulares, para melhor considerar as possibilidades de validação interna e externas dos dados.

Diante das hipóteses lançadas, há significativa presença de atividade inflamatória, sem, no entanto, ser possível afirmar se constituem, como se imagina, causa ou consequência para o fenômeno. A critério de investigação científica propõe-se um estudo de coorte com o controle de variáveis confundidoras e mensurações seriadas dos marcadores nos três trimestres gestacionais para melhores esclarecimentos dos fatos.

APÊNDICES

Apêndice A – PROJETO DE PESQUISA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS E PRÉ-
ECLÂMPسيا**

SUMÁRIO

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 55 |
| 1.1 | Conhecimento etiopatogênico da pré-eclâmpsia | 56 |
| 1.2 | Correlação entre a disfunção endotelial e a resposta inflamatória sistêmica | 58 |
| 1.2.1 | O recrutamento e ativação dos Leucócitos | 59 |
| 1.2.2 | A ativação endotelial e as citocinas | 60 |
| 2 | OBJETIVOS | 64 |
| 2.1 | Objetivo geral | 64 |
| 2.2 | Objetivos específicos | 64 |
| 3 | HIPÓTESE | 65 |
| 4 | MÉTODO | 66 |
| 4.1 | Local do estudo | 66 |
| 4.2 | Desenho do estudo | 66 |
| 4.3 | População do estudo | 66 |
| 4.4 | Tamanho amostral | 67 |
| 4.5 | Seleção da amostra | 67 |
| 4.6 | Critérios de inclusão | 68 |
| 4.7 | Critérios de Exclusão | 68 |
| 4.8 | Variáveis analisadas | 68 |
| 4.8.1 | Variável independente | 68 |
| 4.8.2 | Variáveis dependentes | 69 |
| 4.9 | Procedimentos e Técnicas | 69 |
| 4.10 | Acompanhamento dos sujeitos | 71 |
| 4.11 | Critérios de descontinuação | 71 |
| 4.12 | Instrumento para coleta dos dados | 72 |
| 4.13 | Coleta dos dados | 72 |
| 5 | PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS | 73 |
| 6 | RESULTADOS | 74 |
| 6.1 | Modelos de tabelas | 74 |
| 6.2 | Modelos de regressão linear | 75 |
| 6.2.1 | Gráfico 1a. modelo de regressão linear entre a PCR e FNT- α | 75 |
| 6.2.2 | Gráfico 1b. modelo de regressão linear entre a PCR e IL-6 | 75 |
| 6.2.3 | Gráfico 1c. modelo de regressão linear entre a IL-6 e FNT- α | 75 |
| 6.3 | Características dos testes | 76 |
| 7 | DISCUSSÃO | 77 |
| 8 | ASPECTOS ÉTICOS | 78 |
| 9 | CRONOGRAMA | 79 |
| 10 | REFERÊNCIAS | 80 |

1 INTRODUÇÃO

A pré-eclâmpsia (PE) é uma síndrome clínica de etiologia desconhecida caracterizada por hipertensão arterial materna e proteinúria. Nas suas formas mais severas, está associada a trombocitopenia, coagulação intra-vascular disseminada e danos hepatocelulares^{1,2}.

A hipertensão arterial é definida como uma pressão sanguínea sistólica de 140 mmHg ou uma pressão sanguínea diastólica de 90 mmHg, em geral, surgindo após a 22^a semana gestacional em mulheres previamente normotensas. A proteinúria é estabelecida pela excreção de 300 mg ou mais de proteínas em 24 horas de observação. Quando a análise da perda protéica urinária em 24 horas não é, possível a presença de 1 + (30 mg/dl), ou mais, em amostra isolada de urina é usualmente utilizada¹.

A incidência de PE nos Estados Unidos da América (EUA) é de 6 - 8% em todas as gestações. Em nosso meio, as cifras oscilam em torno de 9–10%³. Nas diabéticas acrescenta-se mais 4% de incidência e nas primíparas com gestação gemelar, acréscimo de 30%. Deve-se considerar, entretanto, que interferências de ordem geográfica, social, econômica e racial são responsáveis por uma elevação neste índice em até três vezes mais considerando algumas populações específicas⁴.

Não menos relevantes são os coeficientes de mortalidade materna encontrados nesta síndrome. A análise das causas das mortes maternas em revisão sistemática realizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) demonstrou que na África e Ásia a principal razão de morte foram os quadros hemorrágicos⁵. Na América Latina e Caribe o motivo líder dos óbitos foi a hipertensão arterial⁶.

No Brasil o índice de mortalidade materna passou de 51,9 em 1996 para 64,8 óbitos por 100 mil nascidos vivos em 1998. Em 2001, o resultado encontrado foi semelhante ao ano de 1996, com cerca de 50 mortes para 100 mil nascidos vivos. Sendo que entre as causas diretas, a pré-eclâmpsia e eclâmpsia foram as que mais se destacaram em todo o período, representando 18,7% das ocorrências letais^{7,8}. Apesar dos recentes progressos nos conhecimentos imunobiológicos a pré-eclâmpsia também, mantém-se responsável por cerca de 40% dos partos prematuros⁹.

Há décadas inúmeras teorias vêm sendo propostas para explicar a gênese da pré-eclâmpsia. Até o momento nenhuma delas foi aceita de forma

definitiva. Tem-se dado ênfase a uma excessiva resposta inflamatória a fim de caracterizar um dos possíveis mecanismos na etiopatogenia da pré-eclâmpsia, em geral, associados aos fenômenos imunológicos, a ativação do sistema de complemento e dos leucócitos sanguíneos, culminando com um quadro de exacerbação inflamatória característica de uma disfunção endotelial sistêmica¹⁰. Grande parte destes achados patológicos também são descritos na chamada síndrome da resposta inflamatória sistêmica, semelhante àquela encontrada na reação de Shwartzman, uma forma particular de resposta inflamatória a endotoxinas bem caracterizada, desde longa data, nos quadros sépticos e em animais de experimentação¹¹.

Assim sendo, continua a despertar o interesse das investigações médicas na tentativa de se encontrar os fatores que, isoladamente ou sinergicamente, agem no desencadear das manifestações clínicas, cujo objetivo último dos estudos, é o de reduzir a morbimortalidade materna e perinatal associadas a esta doença.

1.1 Conhecimento etiopatogênico da pré-eclâmpsia

Como doença de saúde pública sua importância reside no fato de que a etiologia da PE permanece desconhecida.

O fato de não se dispor de um modelo único, claramente estabelecido, no determinismo da pré-eclâmpsia, é razoável supor que, a síndrome, no contexto de suas manifestações clínicas, compreende causas básicas diferentes, com suas próprias características, história natural, e, provavelmente, marcadores clínicos distintos¹²

Recentes estudos em relação à etiopatogenia e fisiopatologia da PE apontam para uma síndrome com modificações patológicas semelhantes à aterosclerose e sugerem que a doença pode ser devida a uma inapropriada adaptação entre o binômio materno-fetal. A síndrome seria causada pela presença da placenta ou seria o resultado de uma resposta materna à placentação, mediada por fatores de tolerância genéticos, imunológicos e inflamatórios¹³.

Quanto à placentação ocorreria uma falha no citotrofoblasto tornando-o incapaz de invadir normalmente a decídua e o miométrio adjacente resultando em

pouco ou nenhum remodelamento das arteríolas espiraladas miométriais com conseqüente hipóxia placentária¹³. O pobre fluxo útero-placentário parece ativar local e/ou sistemicamente os leucócitos, naturalmente mobilizados, desencadeando uma resposta inflamatória materna excessiva marcada pela estimulação de citocinas pró-inflamatórias características de uma disfunção endotelial^{14,15,16}. Vários outros fatores, entretanto, parecem envolvidos na etiopatogenia da PE como o estresse oxidativo caracterizado pela presença de ácidos graxos livres¹⁷, lipoproteínas, lipoproteínas oxidadas ou peróxidos de lipídeos¹⁸, entre outros produtos como: fator de necrose tumoral-alfa (FTN- α)¹⁹, produtos de degradação da fibronectina²⁰ e deportação de fragmentos do sinciciotrofoblasto²¹ são relatados como participantes da síndrome.

A disfunção do endotélio e a resposta inflamatória, como co-fatores etiopatogênicos, não estão totalmente determinados, mas evidências apontam para sua presença a partir de uma origem placentária¹⁰.

Sob este prisma as hipóteses se confundem em uma só, visto que podem ser compreendidas como processos complementares, onde a primeira – hipóxia placentária / estresse oxidativo – é capaz de desencadear a segunda situação clínica – disfunção endotelial e resposta inflamatória exacerbada.

Presume-se que a hipóxia tissular placentária determine a produção aumentada de peróxido lipídico no tecido trofoblástico e elevação desta substância na circulação feto-placentária e materna²². O ponto de convergência entre as teorias se estabelece na instalação de uma má perfusão placentária, provavelmente devida a uma má adaptação ao enxerto semi-alogênico, mediada imunologicamente, ocasionando uma hipóxia tissular placentária, que por sua vez, secreta substâncias nocivas – peróxido lipídico – que em contato com o endotélio sistêmico, desencadeia uma exacerbada resposta inflamatória já presente de forma “estéril” e latente^{9,14,15,16,23,24}.

Postula-se, ainda, que o envolvimento sistêmico do endotélio possa ser o resultado de uma ruptura da membrana placentária com deportação de moléculas trofoblásticas e fetais. Dentre estas moléculas destaca-se a presença marcante do RNA-mensageiro do FNT- α , expressão biomolecular encontrada nas placentas pré-eclâmplicas e estimulador da disfunção endotelial de caráter inflamatório; inexistente em gestações normais, e a presença de células fetais na circulação materna,

particularmente leucócitos fetais, observados em gestações acometidas pela síndrome desde 16-18 semanas¹³.

Seria razoável supor que a origem da PE não esteja diretamente relacionada apenas aos fatores basais, geneticamente determinados e caracterizados pelos mecanismos de intolerância ao alo-enxerto fetal, mas, também, às relevantes contribuições dos fatores ambientais, sociais e demográficos que interferem de forma positiva no desenvolvimento da patologia e acrescentam cifras de maior incidência especialmente nos países em desenvolvimento.

Dentre os fatores ambientais deve-se salientar a prevalência de infecções agindo como gatilhos para o desencadear da doença. Evidências associam a presença de infecções com o desenvolvimento da pré-eclâmpsia e assim sendo e não como hipótese única, mas associativa, admite-se que a presença de infecções sub-clínicas crônicas podem elevar os níveis de citocinas inflamatórias e afetar a função endotelial vascular²⁵.

Enfatizando este dado relata a literatura que a incidência de bacteriúria assintomática é maior em mulheres pré-eclâmplicas (19%) quando comparadas àquelas não acometidas pela doença²⁶ e que a incidência de infecção do trato urinário mostrou-se com um forte fator de risco para o desenvolvimento da PE e eclâmpsia²⁷.

1.2 Correlação entre a disfunção endotelial e a resposta inflamatória sistêmica

O mecanismo que envolve a disfunção endotelial é variado e parece relacionado com a severidade da doença. Em algumas circunstâncias a resposta está condicionada à própria estrutura do endotélio, seja pela mudança no comportamento dos seus receptores, seja pela diminuição na produção do óxido nítrico ou produção excessiva de prostanóides vasoconstritores e/ou devido ao estresse oxidativo e mais recentemente foi sugerido que a presença de citocinas pró-inflamatórias podem modificar o tono fisiológico do endotélio²⁵.

A singular disposição anatômica das células endoteliais, situadas na interface entre o sangue circulante e os tecidos, tem a hábil capacidade de percepção das alterações homeostáticas e podem localmente ou, sistemicamente,

responder a tais alterações e produzirem um certo número de fatores biologicamente ativos¹⁶.

A gênese do processo de inflamação é um dramático aumento na mobilização e expressão de moléculas na superfície do tecido endotelial. Esse mecanismo é responsável por uma cascata de eventos que culminam com a adesão dos leucócitos sanguíneos ao local da injúria inicial que, a princípio local, pode generalizar-se e envolver completamente o compartimento vascular, como em uma sepse^{11,28}.

A adesão leucocitária e a transmigração celular são reguladas principalmente pela ligação de moléculas de adesão complementares no leucócito na superfície endotelial e pelos mediadores químicos – quimiotoxinas e determinadas citocinas – que afetam esses processos modulando a expressão na superfície endotelial ou aumentando a avidéz destas moléculas de adesão²⁹.

1.2.1 O recrutamento e ativação dos Leucócitos

O recrutamento dos leucócitos para os locais da lesão e infecção é um processo que contém várias etapas envolvendo a ligação dos leucócitos circulantes às células endoteliais e sua migração através da membrana endotelial. Os eventos que se seguem incluem a indução das moléculas de adesão, nas células endoteliais, por meio de vários mecanismos.

Um dos mecanismos envolvidos é mediado pelos macrófagos tissulares, mastócitos e células endoteliais que respondem aos agentes lesivos com a secreção de citocinas, sendo as principais: o Fator de Necrose Tumoral α e β (TNF), Interleucina-1 (IL-1) e quimocinas - citocinas quimiotáticas –²⁸.

O TNF- α e a IL-1 atuam nas células endoteliais das vênulas pós-capilares e induzem a expressão de várias moléculas de adesão, principalmente o VCAM-1 (ligante para a integrina VLA-4) e ICAM-1 (ligante para as integrinas LFA-1 e Mac-1). Estas quimocinas agem nos leucócitos que estão rolando, ativando-os. Uma das conseqüências dessa ativação é a conversão das integrinas VLA-4 e LFA-1 dos leucócitos para um estado de alta afinidade com firme adesão dos leucócitos ao endotélio³⁰

Estes agentes inflamatórios podem ser secretados por estímulos de endotoxinas, complexos imunes, agentes microbianos e lesões físicas. Suas ações mais relevantes estão no endotélio, nos leucócitos, nos fibroblastos e na indução de reações sistêmicas na fase aguda do processo inflamatório. Especificamente sob o endotélio induzem um espectro variado de alterações – a maioria regulada em nível da transcrição genética - caracterizando a chamada *ativação endotelial*²⁸.

1.2.2 A ativação endotelial e as citocinas

A ativação endotelial inclui a síntese de moléculas de adesão, mediadores químicos (citocinas), fatores de crescimento e aumento no potencial trombogênico da superfície endotelial.

As citocinas, definidas molecularmente, são chamadas de interleucinas o que significa que elas estabelecem comunicações entre os leucócitos. A maioria das citocinas possui uma ampla gama de efeitos e algumas são produzidas por diferentes tipos de células²⁸.

Entre as principais citocinas, cujas funções estão bem definidas, citam-se:

- Interleucina-1, TNF- α e Interferons do tipo I e II : citocinas que medeiam a imunidade inata (natural) promovendo o recrutamento dos leucócitos e as respostas inflamatórias agudas.
- Interleucina-12 e o Interferon- γ : estão envolvidas tanto na imunidade inata quanto na imunidade adaptativa.
- Interleucina-2, Interleucina-4, Interleucina-12, Interleucina-15 e o Fator Transformador de Crescimento- β (TGF- β) : estão envolvidas na regulação do crescimento, ativação e diferenciação dos linfócitos.
- Interleucina-6 : citocina multifuncional que participa da resposta imune na fase aguda e hematopoese.
- Interleucina-5 : envolvida na regulação dos eosinófilos.
- Quimiocinas C-X-C (produzidas essencialmente pelos macrófagos ativados e células endoteliais) e C-C (produzidas por células T) : são citocinas envolvidas na movimentação de leucócitos.
- GM-CSF e G-CSF : citocinas que estimulam a hematopoese.

As citocinas podem induzir a alterações funcionais e estruturais, incluindo danos oxidativos ou interferir com o mecanismo de relaxamento/contração vascular ocasionando modificações na integridade e tono vascular, além do acometimento do sistema de coagulação. São responsáveis pela regulação da cascata da inflamação mediada através da ação sinérgica de seus representantes, como o FNT- α e IL1-B, IL-6 e IL-8³¹.

A elevação nos níveis plasmáticos do TNF- α e IL-1 β nas grávidas pré-eclâmpticas é relatada por vários autores^{32,33,34,35,36,37,38}. Para estes mesmos autores os níveis das IL-6 e IL-8 são incertos.

Várias evidências suportam a hipótese de envolvimento do TNF- α no mecanismo inflamatório, como: (1) o TNF plasmático tem contato direto com as células endoteliais *in vivo*; (2) a concentração plasmática elevada do TNF tem sido observada em mulheres com pré-eclâmpsia quando comparadas com aquelas normotensas; (3) a infusão crônica de TNF em ratas resultou em um significativo aumento da pressão arterial e resistência vascular renal e (4), finalmente, o FNT está envolvido na regulação e expressão de numerosas moléculas, tais como, o fator de crescimento derivado das plaquetas, moléculas de adesão endotelial, endotelina-1 e inibidores da ativação do plasminogênio. Estas moléculas têm efetivo efeito danoso na vasculatura sistêmica³⁸.

A origem dos níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias na circulação das mulheres pré-eclâmpticas não está claramente definida. Algumas teorias parecem implicar o seu surgimento a partir de placentas de grávidas acometidas pela síndrome. Estes dados, entretanto, não são totalmente consistentes, uma vez que, estudos recentes, não demonstraram diferenças significativas na expressão dos níveis de TNF- α , IL-1 β e IL-6 nas placentas destas mulheres quando comparadas com controles normais^{15,35,39}.

Em sinergismo com a elevação das citocinas pró-inflamatórias ocorre, também, nas pré-eclâmpticas uma ativação periférica dos leucócitos circulantes, capazes de desencadear uma resposta inflamatória excessiva³⁰.

Existem evidências que demonstram uma ativação e aumento nos leucócitos periféricos durante a gravidez fisiológica com elevação na expressão dos

linfócitos CD11b, nos níveis de espécies reativas de oxigênio intracelular (estresse oxidativo) e nas concentrações da elastase plasmática¹⁸.

Luppi (2006) estudou a possibilidade dos leucócitos (monócitos) maternos, nas pré-eclâmplicas, produzirem citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8) e relata a síntese aumentada das citocinas durante o curso da doença³¹.

Permanece incerto, entretanto, qual o gatilho para a ativação dos monócitos nas pacientes pré-eclâmplicas, seja por passagem trans-placentária (monócitos fetais) ou uma ativação dos monócitos maternos periféricos^{14,40}.

Em uma gestação normal, a gravidez, está acompanhada por um mecanismo inflamatório, com a presença de leucocitose, particularmente os monócitos, e uma maior atividade fagocitária, associada a uma maior produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-6 e IL-12^{9,18,19,20,21,23,24}.

Estas modificações representam uma forma de resposta inflamatória estéril desenvolvida pela própria gravidez, e, não necessariamente, uma resposta mediada por infecção⁴⁰.

Outro fator relevante da síndrome da resposta inflamatória exacerbada, também verificada na falência hepática e no estresse respiratório do adulto, intercorrências comuns à pré-eclâmpsia, é o retardo na apoptose dos neutrófilos sanguíneos periféricos⁴¹.

Embora de difícil conclusão, postula-se que o atraso na apoptose verificada na pré-eclâmpsia, é devido a ruptura do espaço intervilloso da placenta pré-eclâmptica e passagem das células fetais leucocitárias para o compartimento materno ou como resultado de modificações vasculares determinadas por citocinas liberadas na disfunção endotelial¹⁸.

O envolvimento inflamatório pode também ser mediado pelas células *natural killer* (NK) e seria, então, o resultado de debris do sinciciotrofoblasto presentes no compartimento vascular materno. Cogita-se que as células NK, e não as células T, são as desencadeadoras da resposta imunológica em ambos os sentidos; pró e anti-inflamatórias^{42,43}.

Na pré-eclâmpsia, uma excessiva migração destas micropartículas, pela ruptura da membrana placentária, permitiria a estimulação, em altos níveis, da IL-18, que, por sua vez, estimularia a produção de interferon- γ (IFN- γ) a partir das células NK, resultando em intensa resposta inflamatória sistêmica⁴².

Ainda considerando a atividade inflamatória, como participante do mecanismo fisiopatológico da PE, a observação do comportamento da proteína C-reativa (PCR) na gestação apresenta poucos estudos. Situações clínicas agudas, tais como nas infecções, processos inflamatórios ou de destruição tecidual permitem sua rápida elevação sérica. As tentativas de associação entre a pré-eclâmpsia e as dosagens séricas de PCR são ainda incipientes e conflitantes¹⁶.

A PCR é um marcador da inflamação sistêmica e admite-se que se encontre elevada na pré-eclâmpsia^{44,45,46,47}.

Pesquisas apontam que a PCR já se encontra elevada desde o primeiro trimestre da gravidez possivelmente predizendo aquelas que desenvolverão a doença em sua magnitude⁴⁸.

Rebelo *at al* já haviam referido que o marcador acha-se aumentado cerca de duas a três vezes durante o terceiro trimestre em gestações complicadas pela pré-eclâmpsia⁴⁹.

Qiu (2004) refere que a concentração da PCR na circulação periférica está associada ao índice de massa corpórea e a outros marcadores de adiposidade e pode ter valor preditivo positivo para a PE quando seus valores acham-se elevados no primeiro trimestre gestacional, particularmente nas mulheres obesas⁵⁰.

Pesquisa clínica realizada, mostrou que a PCR esteve associada ao agravamento da doença hipertensiva e excreção aumentada de proteínas nas pré-eclâmplicas e que, níveis superiores a 6mg/dl, poderiam servir de valor diagnóstico e prognóstico para a referida moléstia¹⁶.

Sua elevação precoce também tem sido amplamente valorizada nas doenças cardiovasculares por se acreditar que possa ser estimulada pelas lesões endoteliais⁴⁷.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Mensurar os marcadores inflamatórios (TNF- α , IL-6 e PCR) presentes nos grupos de mulheres pré-eclâmpticas (grupo-doença) e nas grávidas normotensas (grupo-controle)

2.2 Objetivos específicos

- Estabelecer as características gerais na população de estudo.
- Mensurar e comparar os marcadores inflamatórios (TNF- α , IL-6 e PCR) em gestantes com diagnóstico clínico-laboratorial de pré-eclâmpsia e no grupo grávidas normotensas.
- Determinar a correlação de significância dos níveis destes marcadores inflamatórios (TNF- α , IL-6 e PCR) entre as pré-eclâmpticas (grupo-doença) e as grávidas normotensas (grupo-controle).
- Estabelecer um ponto de corte através da *receiver operator characteristic curve*, (curva ROC), para as variáveis a partir dos grupos criados.
- Analisar as características específicas dos testes laboratoriais entre os grupos.

3 HIPÓTESE

Considerando os mecanismos envolvidos da fisiopatologia da pré-eclâmpsia postula-se a hipótese de sua associação com uma atividade inflamatória exacerbada, particularmente nas suas formas clínicas graves, caracterizada por elevações séricas de marcadores inflamatórios como o FNT- α , IL-6 e PCR, entre outros. Lançamos a hipótese da utilização destes marcadores como pertencentes à etiopatogenia da PE e como possíveis critérios diagnósticos para a síndrome materna.

4 MÉTODO

4.1 Local do estudo

O estudo foi desenvolvido em duas unidades hospitalares da cidade de João Pessoa.

- Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB): Entidade pública vinculada ao Sistema Único de Saúde (SUS) caracterizada como referência para o atendimento de pacientes com gestação de risco elevado no estado da Paraíba.
- Instituto Cândida Vargas (ICV) da Secretaria de Saúde do Município (SMS) de João Pessoa: Instituição pública vinculada ao Sistema Único de Saúde (SUS) caracterizada pelo atendimento de gestantes de baixo e alto risco no município de João Pessoa.

4.2 Desenho do estudo

O presente estudo obedeceu às regras de um estudo quantitativo, de campo e de corte transversal com análise das características dos testes diagnósticos.

4.3 População do estudo

Pacientes internadas no HULW/UFPB e ICV/SMS com diagnóstico clínico e laboratorial de pré-eclâmpsia, representando o grupo-doença e pacientes matriculadas nos serviços de pré-natal de baixo risco, de ambas entidades, representando o grupo-controle.

4.4 Tamanho amostral

Para cálculo do n amostral, fundamentou-se a pesquisa, em dados bibliográficos extraídos do artigo: Sharma, A; Satyam, QA; Sharma, J. Leptin, IL-10 and Inflammatory Markers (TNF- α , IL-6 and IL-8) in Pré-eclamptic, Normotensive Pregnant and Healthy Non-pregnant Women. Am. J. Reprod Immunol 2007; 58:21-30 e; Cabral, A.C; Lázaro, J.F; Vitral, Z.N.R. Concentração Sérica Materna da Proteína C Reativa em Gestações Complicadas pela Pré-eclâmpsia. RBGO 2002; 24(1):9-13.

Tomou-se como parâmetro a diferença entre duas médias posteriormente aplicadas no *software* openepi- epidemiologic calculators e formação dos grupos de estudo, admitindo-se um erro tipo 1 de 5 % (intervalo de confiança de 95% - bicaudal) e power de 80%.

Tabela 1 – Cálculo do tamanho amostral

| | | |
|---|---------|---------|
| Intervalo de Confiança (bi-caudal) | 95% | |
| Power | 80% | |
| Razão entre os tamanhos amostrais (grupo 1 : grupo 2) | 1 | |
| | Grupo 1 | Grupo 2 |
| Tamanho amostral do grupo 1 | 40 | - |
| Tamanho amostral do grupo 2 | - | 40 |
| Tamanho amostral total | - | 80 |

Fonte: Openepi-epidemiologic Calculators, versão 3.2.2
Estatísticos: Kevin M. Sullivan, Emory University
Interface: Andrew G. Dean e Roger A. Mir, Epienformatics.com.

4.5 Seleção da amostra

As pacientes do grupo-doença, envolvidas no estudo, foram aquelas admitidas nas enfermarias de gravidez de alto-risco dos Serviços de Obstetrícia do HULW (UFPB) e ICV (SMS). Optou-se por selecionar as pacientes, definitivamente internadas e com diagnóstico de PE e, assim sendo, foram acompanhadas pelo pesquisador em visitas clínicas diárias onde foram realizados os exames complementares previstos para o caso. A assistência médica obedeceu os

protocolos clínicos definidos pelos referidos serviços. A todas foi lido e fornecido o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo 14.1).

As pacientes do grupo-controle foram aquelas matriculadas nos serviços de pré-natal das referidas instituições.

4.6 Critérios de inclusão

- Ter um diagnóstico clínico e laboratorial de pré-eclâmpsia, conforme os critérios do National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy, 2000 (NHBP,2000), caracterizando o grupo-doença.
- Pacientes do grupo-controle foram as mulheres grávidas normotensas matriculadas nos serviços de pré-natal do HULW (UFPB) e ICV (SMS).

4.7 Critérios de Exclusão

- Presença de outras doenças clínicas inflamatórias agudas ou crônicas pregressas, rastreadas por anamnese dirigida e exame físico minucioso.
- Presença de mal-formações fetais.
- Pacientes fumantes

4.8 Variáveis analisadas

4.8.1 Variável independente

A variável independente foi a existência de gestação humana dividida em dois grupos:

Grupo – doença: Pacientes com diagnóstico específico de pré-eclâmpsia (*gold standart*), conforme o NHBP, 2000.

Grupo - controle: Gestantes normotensas, sem outras intercorrências clínicas.

A pré-eclâmpsia (grupo-doença) foi definida como a elevação da pressão arterial após a 22^a semana gestacional, em paciente previamente normotensa, cujos valores mensurados no antebraço direito, acima da prega cubital e em posição sentada, atingem as medidas de 140mmHg na pressão sistólica e 90mmHg na pressão diastólica, utilizando-se para este último o V ruído de Korotkoff. Esta medida deverá se repetir em nova mensuração cerca de seis horas após a primeira, com a paciente em posição de decúbito, preferencialmente, lateral esquerdo. A elevação dos níveis tensionais deverão estar associados à proteinúria, definida como aquela superior a 300mg/L/24h ou em pesquisa de fita com 1 ou mais + .

4.8.2 Variáveis dependentes

Consideram-se variáveis dependentes aquelas contínuas, expressas em seus respectivos valores obtidos através dos testes diagnósticos.

4.9 Procedimentos e Técnicas

As amostras sanguíneas venosas foram coletadas no período antenatal com seringas a vácuo pelo próprio pesquisador nos ambientes de enfermarias e ambulatórios das instituições participantes.

- Para determinação dos níveis pressóricos, expressos em mmHg, foi utilizado um aparelho de esfigmomanômetro com coluna vertical de mercúrio. O critério de hipertensão foi aquele padronizado pelo NHBP, 2000.
- Para determinação dos níveis de proteinúria, cujos valores foram expressos em mg/L/24h, foi obtida a diurese espontânea da paciente, em 24h de coleta, acondicionada em recipiente próprio e posteriormente encaminhada para análise no laboratório das instituições envolvidas na pesquisa (HULW / ICV). Para aquelas com

quadro clínico instável e grave foi utilizado o kit de análise de proteinúria fornecido pelo laboratório Bayer Diagnósticos com análise subjetiva de urina em duas amostras. O grau de proteinúria em cruces (+) foi assim estabelecido: 1+: 30mg/dl; 2+: 100mg/dl; 3+: 300mg/dl e 4+: 2000mg/dl.

- Para mensurar os níveis de PCR foi obtido cerca de 5ml de sangue venoso em tubo sem anticoagulante em sujeitos durante o período pré-natal. A técnica para dosagem foi quantitativa por imunoturbidimetria, empregando-se 0,5ml de soro monoclonal. As medições foram realizadas no laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário Lauro Wanderley (UFPB). Os resultados foram expressos em mg/L.
- O Fator de Necrose Tumoral (TNF- α) foi determinado no período antenatal através da coleta de sangue venoso, sem necessidade de jejum prévio. Trata-se de um ensaio imunométrico seqüencial em fase sólida quimioluminescente. A medição foi executada por profissionais bioquímicos especializados do laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC) – Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) e Pronto-Análise (instituição privada do município de Campina Grande-Pb), através de kits específicos fabricados pela EURO/DPC Ltd. (EURO, Glyn Rhonwy, United Kingdom e DPC, Los Angeles, Estados Unidos da América) e processados pelo aparelho IMMULITE 1000 de acordo com o sistema de qualidade registrado segundo a norma ISO 13485:2003. Os resultados foram expressos em pg/mL.
- A Interleucina-6 (IL-6) foi determinada no período antenatal através da coleta de sangue venoso, sem necessidade de jejum prévio. Trata-se de um ensaio imunométrico seqüencial em fase sólida quimioluminescente. A medição foi executada por profissionais bioquímicos especializados do laboratório de análises clínicas do HUAC (UFCG) e Pronto-Análise (instituição privada do município de Campina Grande-Pb), através de kits específicos fabricados pela EURO/DPC Ltd. (EURO, Glyn Rhonwy, United Kingdom e DPC, Los Angeles, Estados Unidos da América) e processados pelo aparelho

IMMULITE 1000 de acordo com o sistema de qualidade registrado segundo a norma ISO 13485:2003. Os resultados foram expressos em pg/mL.

4.10 Acompanhamento dos sujeitos

As pacientes do grupo-doença foram acompanhadas pelo próprio pesquisador desde a sua admissão nas unidades hospitalares até a resolução da gravidez. Neste momento o diagnóstico clínico- obstétrico e de pré-eclâmpsia foi ratificado e estabelecido

- Avaliação do estado geral da paciente e realização dos exames bioquímicos preconizados.
- O acompanhamento clínico foi executado pelo próprio pesquisador valendo-se dos protocolos de conduta das instituições referidas.

As pacientes do grupo-controle foram avaliadas em nível ambulatorial e foi oferecido naquele momento uma avaliação clínica obstétrica especializada, contemplando a realização de:

- Avaliação do estado geral da paciente e realização dos exames bioquímicos preconizados.

4.11 Critérios de descontinuação

A descontinuação do sujeito dentro do contexto geral da pesquisa estava vinculada:

- à decisão espontânea de evasão da unidade de internação antes de definitivamente resolvida a patologia em questão.
- ao extravio dos resultados laboratoriais.
- Interrupção temporária da pesquisa em função de eventual paralisação de funcionários das instituições referidas ou danos nos aparelhos de medição que possam interferir no cronograma pré-estabelecido.

4.12 Instrumento para coleta dos dados

Foi elaborada uma ficha clínica que continha dados sócio-demográficos, clínicos obstétricos e exames laboratoriais específicos, preenchida pelo próprio pesquisador (ver Apêndice B).

4.13 Coleta dos dados

Os sujeitos do estudo foram as pacientes admitidas nas enfermarias do HULW (UFPB) e ICV (SMS) que compunham o grupo-doença. As pacientes do grupo-controle foram aquelas inscritas nas unidades de pré-natal de baixo risco das referidas instituições.

Os dados foram coletados pelo pesquisador em uma ficha clínica pré-estabelecida. As amostras sanguíneas também foram colhidas pelo pesquisador nas pacientes internadas e naquelas acompanhadas em nível ambulatorial, armazenadas conforme preconizado e encaminhadas imediatamente para o laboratório de análise.

Foram colhidas amostras contendo sangue venoso periférico em torno de 10ml, não heparinizadas e sem necessidade de jejum prévio. As amostras foram centrifugadas, aliquotadas e congeladas a -30° C. As medições aconteceram em um momento único nos referidos laboratórios. Os dados gerais foram compilados pelo pesquisador e transferidos para um banco de dados criado em plataforma eletrônica.

5 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

Os dados colhidos através das fichas clínicas foram incluídos em planilha eletrônica do *software* Epi Info versão 3.2.2, revisadas quanto ao seu inteiro e correto preenchimento. Este passo foi executado pelo pesquisador e em seguida pelo auxiliar da pesquisa a fim de assegurar a confiabilidade dos dados na formação da tabelação bruta.

A análise estatística dos dados foi executada usando *software* específico (Epi-Info 3.2.2 e MEDCALC versão 10.0).

Trata-se de um estudo observacional onde não se espera uma intervenção do pesquisador. Não há determinação do sujeito exposto ou não, pelo contrário, analisa-se a hipótese em função das circunstâncias criadas pela própria “natureza”, onde o pesquisador apenas observa e cataloga os expostos e não expostos ao fenômeno.

Nos estudos transversais (“cross sectional studies”) não se tem uma idéia, no tempo, sobre a antecedência do fenômeno em relação ao aparecimento da doença. Há um levantamento da população de estudo, assinalando-se simultaneamente a ausência ou presença do fenômeno.

Tratou-se de uma comparação entre duas médias ou duas medianas, de caráter independente, onde a alocação dos pacientes nos grupos de estudo foram organizadas na forma de blocos aleatórios, considerando a possibilidade de emparelhamento das variáveis (idade materna, idade gestacional e paridade). Foram aplicados os testes estatísticos ANOVA e Mann-Whitney para comparação de dois grupos independentes admitindo-se a possibilidade de distribuição Normal ou não, adotando-se o erro tipo I em 5% e o valor de $p < 0,05$ para rejeição da hipótese nula de igualdade das médias ou medianas nos dois grupos.

Análise de regressão linear, teste de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo, razão de verossimilhança positivo e negativo foram calculados com intervalo de confiança de 95%, a fim de se estabelecer as características dos testes após a confecção da curva ROC.

6 RESULTADOS

6.1 Modelos de tabelas

Tabela 2. Características gerais no grupo com PE e no Grupo Controle

| | PE ($n= 41$) | GC ($n= 40$) | p valor |
|---------------------------------------|----------------|----------------|---------|
| IDADE MATERNA (anos) | | | |
| Média / DP | | | |
| Valor mínimo / máximo | | | |
| Percentil 25 / Percentil 75 | | | |
| IDADE GESTACIONAL (semanas) | | | |
| Média / DP | | | |
| Valor mínimo / máximo | | | |
| Percentil 25 / Percentil 75 | | | |
| GESTA | | | |
| Mediana | | | |
| Valor mínimo / máximo | | | |
| Percentil 25 / Percentil 75 | | | |

FONTE: Pesquisa direta.

PE = Pré-eclâmpsia, GC = Grupo Controle, DP = Desvio Padrão

Tabela 3. Valores de PCR , FNT- α e IL-6 nos grupos: PE e Grupo Controle

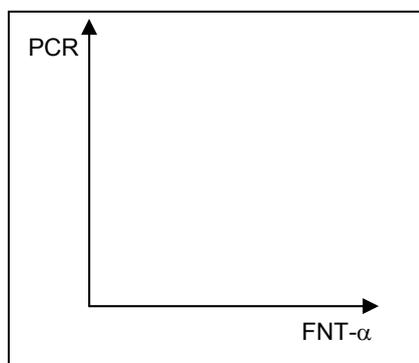
| | PE ($n= 41$) | GC ($n= 40$) | p valor |
|--|----------------|----------------|---------|
| PCR (mg/dl) | | | |
| Mediana | | | |
| Valor mínimo / máximo | | | |
| Percentil 25 / Percentil 75 | | | |
| FNT-α (pg/mL) | | | |
| Mediana | | | |
| Valor mínimo / máximo | | | |
| Percentil 25 / Percentil 75 | | | |
| IL-6 (pg/mL) | | | |
| Mediana | | | |
| Valor mínimo / máximo | | | |
| Percentil 25 / Percentil 75 | | | |

FONTE: Pesquisa direta.

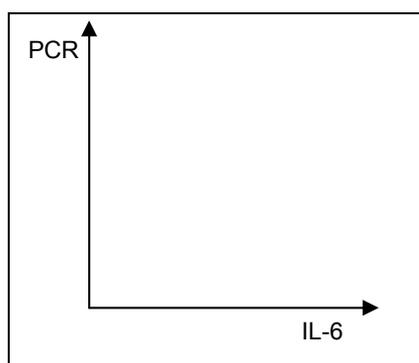
PE = Pré-eclâmpsia, GC=Grupo Controle, PCR=Proteína C-reativa, FNT- α =Fator de Necrose Tumoral-alfa, IL-6 = Interleucina-6

6.2 Modelos de regressão linear

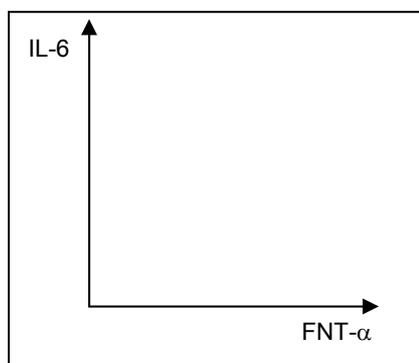
6.2.1 Gráfico 1a. modelo de regressão linear entre a PCR e FNT- α



6.2.2 Gráfico 1b. modelo de regressão linear entre a PCR e IL-6



6.2.3 Gráfico 1c. modelo de regressão linear entre a IL-6 e FNT- α



6.3 Características dos testes

TABELA 4: Características dos testes diagnósticos.

| | Sensibilidade | Especificidade | VPP | VPN | RV+ | RV- | IY |
|---------------|---------------|----------------|-----|-----|-----|-----|----|
| IL-6 | | | | | | | |
| FNT- α | | | | | | | |
| PCR | | | | | | | |

FONTE: Pesquisa direta.

VPP = Valor Preditivo Positivo, VPN = Valor Preditivo Negativo, PCR = Proteína C-reativa, FNT- α = Fator de Necrose Tumoral-alfa, IL-6 = Interleucina-6, RV+ = Razão de Verossimilhança Positivo, RV- = Razão de Verossimilhança negativo. IY = Índice de Youden

7 DISCUSSÃO

8 ASPECTOS ÉTICOS

Esta pesquisa atendeu aos postulados da declaração de Helsinque, Edimburgo, em Outubro de 2000 e seguiu os termos preconizados pelo Código de Nuremberg e pelo Conselho Nacional de Saúde (resolução 196/1996), para pesquisa em seres humanos.

Para tanto será submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba.

Todas as pacientes foram devidamente informadas sobre os objetivos e os métodos do estudo e só foram incluídas caso concordassem em participar, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido (ver Apêndice C).

Ficou claramente resguardado o direito de qualquer paciente se recusar a participar do estudo.

O pesquisador se comprometerá a publicar o estudo, independente dos resultados obtidos.

10 REFERÊNCIAS

- 01 The National High Blood Pressure Education Program Working Group On High Blood Pressure in Pregnancy. NIH Publication. 2000, no 00-3029.
- 02 Savvidou, MD; Lees, CC; Parra, M; et al. Levels of C-reactive protein in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol.* 2002. v.109, p.297-301.
- 03 REZENDE, J. OBSTETRÍCIA. 9 Ed. 2002. Rio de Janeiro.
- 04 WALKER J. J. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2000. v.356, n. 9237, p. 1260-1265
- 05 WORLD HEALTH ORGANIZATION. Maternal mortality in 2000: estimates developed by WHO, UNICEF and UNFPA. 2004, Geneva.
- 06 KHAN, K. S. et al. WORLD HEALTH ORGANIZATION: analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet.*2006. v.367 n.9516, p.1066-1074.
- 07 LAURENTI, R; MELLO JORGE, M. H. P; GOTLIEB, S. L. D. Mortes Maternas no Brasil: Análise do preenchimento de variável da Declaração de Óbito. Informe Epidemiológico do SUS. Jan/Mar. 2000. v.9 p.43-50.
- 08 LAURENTI, R; JORJE, M. H. P. M; GOTLIEB, S. L. D. Mortalidade em mulheres de 10 a 49 anos com ênfase na Mortalidade Materna. In: SIMÕES, C. Saúde no Brasil, conceitos, programas e indicadores. IBGE, 2004. CD-ROM.
- 09 Sharma, A; Satyam, A; Sharma, J. B; Leptin, IL-10 and Inflammatory Markers (TNF- α , IL-6 and IL-8) in Pre-eclamptic, Normotensive Pregnant and Healthy Non-pregnant Women. *Am J Reprod Immunol.* 2007. v.58, p.21-30.
- 10 Redman, CWG; Sacks, GP; Sargent, IL; Preeclampsia: An excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1999. v.180, n.2, p. 499-506.
- 11 McKay, DG; Merrill, SJ; Weiner, AE; et al; The pathologic anatomy of eclampsia, bilateral renal cortical necrosis, pituitary necrosis and other acute fatal complications of pregnancy and its possible relationship to the generalized Shwartzman phenomenon. *Am J Obstet Gynecol.* 1953. v.66, p.507 – 539.
- 12 Roberta, BN. Roberts, JM. Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: A hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol.* 1996. v.175, p.1365-70.
- 13 Sibai, B; Dekker, G. Kupferminc, M. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2005, v.365, p.785-99.

- 14 P.von DADELSZEN,MB; WATSON,RWG; NOORWALI,F. Maternal neutrophil apoptosis in normal pregnancy, preeclampsia and normotensive intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.*1999. v.181, n.2, p.408-413.
- 15 Benyo, DF; Smarason, A; Redman, CW; et al. Expression of inflammatory cytokines in placentas from women with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001. v. 86, n.6, p.2505-2512.
- 16 Cabral, A.C.V.; Lázaro, J.F; Vitral, Z.N.R. Concentração sérica materna da proteína C reativa em gestações complicadas pela pré-eclâmpsia. *RBGO.* 2002. v.24,n.1,p.9-13.
- 17 Endresen, MJ; Tosti, E; Heimli, H; et al ; Effects of free fatty acids found increased in women who developed pre-eclampsia on the ability of endothelial cells to produce prostacyclin, cGMP and inhibit platelet aggregation. *Scand J Clin Lab Invest.* 1994. v.54, p.549-57.
- 18 Hubel,C.A; Oxidative Stress in the Pathogenesis of Preeclampsia. *S.E.B.M.* 1999. v. 222, p.35.
- 19 Vince, G.S.; Starkey, P.M.; Austgulen, R.; et al; Interleukin-6, tumour necrosis factor and soluble tumour necrosis factor receptors in women with pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol.* 1995. v.102, p.20-5.
- 20 de Jager, C.A.; Shephard, E.G.; Robson, S.C.; et al; Degradation of fibronectin in association with vascular endothelial disruption in preeclampsia. *J Lab Clin Med.* 1995. v.125, p.522-30.
- 21 Smarason, A.K.; Sargent, I.L.; Starkey, P.M.; et al ; The effect of placental syncytiotrophoblast microvillous membranes from normal and pre-eclamptic women on the growth of endothelial cells in vitro. *Br J Obstet Gynaecol.* 1993. v.100, p.943-9.
- 22 Kim, Y.H.; Ahn, B.; Song, T.B.; et al. Lipide peroxidation and total peroxy radical trapping ability of umbilical venous blood plasma in normal pregnancy and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2001. v.184, p:S75.
- 23 Peraçoli, J.C.; Rudge, M.V.C.; Peraçoli, M.T.S.; Tumor Necrosis Factor-alpha in Gestation and Puerperium of Women with Gestational Hypertension and Preeclampsia. *Am J Reprod Immunol.* 2007. v.57, n.3, p.177.
- 24 Meziani, F; Tesse, A; Asfar, P; et al; De la toxémie gravidique à l'éclampsie: physiopathologie. *J Reaurg.* 2007. v.10, p.1016
- 25 Herrera,J.A.; Chaudhuri,G.; López-Jaramillo,P. Is infection a major risk factor for preeclampsia? *Medical Hypotheses.* 2001. v.57, n.3, p.393-397.

- 26 Hill, J.A.; Devoe, L.D.; Bryans, Cl. Jr. Frequency of asymptomatic bacteriuria in preeclampsia. *Obstet. Gynecol.* 1986. v.67, p.529-532.
- 27 Mittendorf, R; Lain, K.Y.; Williams, M.A. Preeclampsia. A nested, case-control study for risk factors and their interactions. *J Reprod Med.* 1996. v.41, p. 491-496.
- 28 Robbins, S.L. ; Cotran, R.S. *Bases Patológicas das Doenças.* Rio de Janeiro: Elsevier, 2005
- 29 Muller W.A; Leukocyte-endothelial cell interactions in the inflammatory response. *Lab Invest.* 2002, v.82, p.521
- 30 Roberts, JM; Lain, .HY; Recent insights into the pathogenesis of pre-eclampsia. *Placenta.* 2002. v.23, p.359-372.
- 31 Luppi, P; Deloia, J A; Monocytes of preeclampsia women spontaneously synthesize pro-inflammatory cytokines. *Clin Immunol.* 2006. v.118, p.268-275.
- 32 Kupferminc, MJ; Peaceman, AM; Wigton, TR; et al ; Immunoreactive tumor necrosis factor-alpha is elevated in maternal plasma but undetected in amniotic fluid in the second trimester. *Am J Obstet Gynecol.*1994. v.171,p. 976-979.
- 33 Greer, IA; Lyall, F; Perera, T; et al; Increased concentrations of cytokines interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist in plasma of women with preeclampsia: a mechanism for endothelial dysfunction. *Obstet Gynecol.* 1994. v.84, p.937-940.
- 34 Stallmach, T; Hebisch, G; Joller, H; et al: Expression pattern of cytokines in the different compartments of the feto-maternal unit under various conditions. *Reprod Fertil Dev.* 1995. v.7, p.1573-1580.
- 35 Wang, Y; Walsh, SW; TNF alpha concentrations and mRNA expression are increased in preeclamptic placentas. *J Reprod Immunol.* 1996. v.7, p.240-244.
- 36 Williams, MA; Farrand, A; Mittendorf, R; et al: Maternal second trimester serum tumor necrosis factor-alpha-soluble receptor p55 (sTNFp55) and subsequent risk of preeclampsia. *Am J Epidemiol.* 1999. v.149, p.323-329.
- 37 Al Othman, S; Omu, AE; Diejomach, FM; et al ; Differential levels of interleukin-6 in maternal and cord sera and placenta in women with pre-eclampsia. *Gynecol Obstet Invest.* 2001. v.52, p.60-65.
- 38 Hung, Tai-Ho; Charnock-Jones, S; Skepper, JN; et al: Secretion of Tumor Necrosis Factor- α from Human Placental Tissues Induced by Hypoxia-Reoxygenation Causes Endothelial cell Activation in vitro. A potential Mediator of the Inflammatory Response in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2004. v.164, p.1049 – 1061.

- 39 Rein, DT; Breidenbach, M; Honscheid, B; et al: Preeclamptic women are deficient of interleukin-10 as assessed by cytokine release of trophoblast cells in vitro. *Cytokine*. 2003. v.23, n.4-5, p.119-125.
- 40 Sargent, IL; Borzychowski, AM; Redman, CW; NK cells and human pregnancy-an inflammatory view. *Trends Immunol*. 2006. v.27, n.9, p.399-404.
- 41 Jimenez, MF; Watson, RW; Parodo, J; et al. Dysregulated expression of neutrophil apoptosis in the systemic inflammatory response syndrome. *Arch Surg*. 1997. v. 132, p.1263-70.
- 42 Knight, M; Redman, CW; Linton, EA; et al: Shedding of syncytiotrophoblast microvilli into the maternal circulation in pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol*. 1998. v.105, n.6, p.632-640.
- 43 Hahn, S; Huppertz, B; Holzgreve, W; Fetal cells and cell free fetal nucleic acids in maternal blood: now tools to study abnormal placentation? *Placenta*. 2005. v.26, n.7. p.515-526.
- 44 Ridker, PM; Glynn, RJ; Hennekens, CH; C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation*. 1998. v.20, p.2007-11.
- 45 Teran, E; Escudero, C; Moya, W; et al. Elevated C-reactive protein and pro-inflammatory cytokines in Andean women with pré-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet*. 2001. v.3, p.243-9.
- 46 Kumru, S; Godekmerdan, A; Kutlu, S; et al. Correlation of maternal serum high-sensitive C-reactive protein levels with biochemical and clinical parameters in preeclampsia. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2006. v.124, p.164-167.
- 47 García, RG; Celédon, J; Sierra-Laguado, J; et al. Raised C-reactive protein and impaired flow-mediated vasodilation precede the development of preeclampsia. *Am J Hipertens*. 2007. v.20, n.1, p.98-103.
- 48 Luthy, D; Williams, M; Zhang, C; et al. Elevated first trimester serum C-reactive protein and subsequent risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2001. v.184, p.S77.
- 49 Rebelo, I; Carvalho-Guerra, F; Pereira-Leite, L; et al. Comparative study of lactoferrin and other blood markers of inflammatory stress between preeclamptic and normal pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1996. v.64, p.167-73.
- 50 Qiu,C; Luthy,DA; Zhang,C; et al. A prospective study of maternal serum C-reactive protein concentrations and risk factor of preeclampsia. *AJH*. 2004. v.17, p.154-160.

- 51 Afshari, J. T; Ghomian, N; Shameli, A; et al. Determination of Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor-alpha concentrations in Iranian-Khorasanian patients with preeclampsia. BMC Pregnancy and Childbirth. 2005. v.5, p.14.

Apêndice B
Protocolo de Pesquisa

ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS E PRÉ-ECLÂMPSIA

Ficha Clínica / Protocolo de Pesquisa:

Desenho do Estudo: Corte transversal clínico-analítico .

1. DADOS GERAIS:

1.1 Nome: _____

1.2 Número de Ordem: _____

1.3 Registro Hospitalar: _____

1.4 Idade: _____ anos

2. DADOS OBSTÉTRICOS:

2.1 Paridade: Gesta _____ / Para _____ (eutócico / cerárea)

2.2 Idade gestacional:

2.3 Tempo de amenorréia (DUM: ____/____/____ - DPP: ____/____/____)

_____ semanas/dias

2.4 Idade gestacional ecográfica: Primeiro trimestre: (data: ____/____/____ - _____ sem/dias

2.5 Idade gestacional ecográfica: Segundo trimestre: (data: ____/____/____ - _____ sem/dias

2.6 Idade gestacional ecográfica: Terceiro trimestre: (data: ____/____/____ - _____ sem/dias

2.7 Diagnóstico Clínico/Obstétrico:

(1) Pré-eclâmpsia leve

(2) Pré-eclâmpsia grave

(3) Grávida normotensa

(4)Proteinúria de fita: _____ cruces

(5)Proteinúria de 24h: _____ mg/l/24h

(6)Outras doenças agudas e/ou crônicas _____

3. DADOS DE DOSAGENS BIOQUÍMICAS MATERNAS:

3.1 Valor de PCR _____ mg

3.2 Valor de FNT- alfa: _____ pg/ml

3.3 Valor da Interleucina-6 _____ pg/ml

João Pessoa _____ / _____ / _____

Pesquisador: _____

Apêndice C
Termo de Consentimento

ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS E PRÉ-ECLÂMPSIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Leitura prévia do Termo de Consentimento:

Moisés Diogo de Lima, médico desta Maternidade, está realizando uma pesquisa com as pacientes portadoras de pressão alta na gravidez e alterações em algumas substâncias no sangue da mãe; como por exemplo: elevação dos níveis de tres substâncias, uma chamada de fator de necrose tumoral, outra chamada, proteína C reativa e outra chamada, interleucina-6. Parece que quando eles estão elevados no sangue a forma da doença é mais grave, tanto para a senhora como para o bebe. Desta forma, esta pesquisa procura medir estas substâncias no seu sangue e para isso é preciso tirar cerca de 10ml de sangue da sua veia do braço e mandar para o laboratório. Talvez uma pequena mancha fique no local da punção. Mesmo que a senhora não aceite em participar o seu atendimento será o mesmo. A senhora aceita participar desta pesquisa?

Estas informações ficarão no seu prontuário.

Se possível leia tudo isso que lhe falei e assine este documento confirmando que ouviu tudo o que lhe falei e dando o seu consentimento.

Obrigado.

Eu, _____

Paciente internada no Hospital Universitário Lauro Wanderley – UPFB / ICV - , nesta data, li e ouvi tudo o que me foi dito e escrito e aceito participar desta pesquisa de livre e espontânea vontade e dela posso me ausentar a qualquer momento que julgar necessário.

João Pessoa ____/____/____

_____ -
assinatura

_____ -
polegar direito

Apêndice D
Tabelas de Contingência

Tabela 3. Relação entre o PCR e a PE

| | PE (n̂ = 41) | - | GNT (n̂ = 40) | - | TOTAL |
|-------------|-----------------|---|------------------|---|-------|
| PCR elevado | 20 | | 06 | | 26 |
| PCR normal | 21 | | 34 | | 55 |
| Total | 41 | | 40 | | 81 |

PE: pré-eclâmpsia , GNT: Grávidas normotensas , PCR (Proteína C Reativa)

χ^2 : 9,1 / $\rho = 0,003$

OR: 5,39 (IC95%: 1,8-15,6)

Tabela 4. Relação entre o TNF- α e a PE

| | PE (n̂ = 41) | - | GNT (n̂ = 40) | - | TOTAL |
|-----------------------|-----------------|---|------------------|---|-------|
| TNF- α elevado | 27 | | 12 | | 39 |
| TNF- α normal | 14 | | 28 | | 42 |
| Total | 41 | | 40 | | 81 |

PE: pré-eclâmpsia , GNT: Grávidas normotensas , TNF- α (fator de necrose tumoral alfa)

χ^2 : 9,0 / $\rho = 0,003$

OR: 4,5 / IC95%: 1,7- 11,4

Tabela 5. Relação entre o IL-6 e a PE

| | PE (n̂ = 41) | - | GNT (n̂ = 40) | - | TOTAL |
|--------------|-----------------|---|------------------|---|-------|
| IL-6 elevado | 37 | | 08 | | 45 |
| IL-6 normal | 04 | | 32 | | 36 |
| Total | 41 | | 40 | | 81 |

PE: pré-eclâmpsia , GNT: Grávidas normotensas , IL-6 (Interleucina - 6)

χ^2 : 37,6 / $\rho = 0,000$

OR: 37 / IC95%: (10,1-134,4)

ANEXOS

Anexo A

Cópia da Aprovação no Comitê em Pesquisa com Seres Humanos



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO LAURO WANDERLEY
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS



CERTIDÃO

Com base na Resolução nº 196/96 do CNS/MS que regulamenta a ética da pesquisa em seres humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba, em sua sessão realizada dia 27/11/07 análise do parecer do relator, resolveu considerar **APROVADO** o projeto de pesquisa intitulado: **ASSOCIAÇÃO ENTRE OS MARCADORES INFLAMATÓRIOS (FATOR DE NECROSE TUMORAL-alfa, Interleucina-6 e proteína E C Reativa) e a pré-eclâmpsia)** Protocolo nº 132/07 do Pesquisador MOISÉS DIOGO DE LIMA

Solicitamos enviar ao CEP/HULW, um resumo sucinto dos resultados, no final da pesquisa.

João Pessoa 25 de novembro de 2008


Taponira Cortez Costa de Oliveira
Coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa - CEP/HULW

Taponira Cortez Costa de Oliveira
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa-HULW

Hospital Universitário Lauro Wanderley-HULW- 4º andar
Campus I – Cidade Universitária. Bairro: Castelo Branco – João Pessoa-PB.
CEP: 58059-900 Fone (83) 32167302 CNPJ: 24098477/0007-5
E-mail - cepulw@hotmail.com

Anexo B

ROTEIRO PARA APRESENTAÇÃO DA DISSERTAÇÃO/TESE NOS PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TOCGINECOLOGIA DA FCM/UPE



ROTEIRO PARA APRESENTAÇÃO DA DISSERTAÇÃO/TESE NOS PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TOCOGINECOLOGIA DA FCM/UPE

O objetivo desta proposta é normatizar a forma de apresentação da dissertação/tese no programa de tocoginecologia da FCM/UPE, segundo às tendências dos Programas de Pós-graduação nacionais. Considerando que a forma de divulgação de maior visibilidade pela comunidade científica é o artigo e visando alavancar a produção científica dos cursos, decidiu-se que a apresentação das dissertações/teses passem a ser sob a forma de 2 artigos sendo um deles sob a forma de revisão do tema/objeto da investigação e o(s) outro(s) referente aos resultados obtidos no desenvolvimento da pesquisa.

Na montagem do documento apresentado a banca como requisito final para obtenção do grau de mestre deve ser seguida a seguinte normatização:

CAPA

É a proteção externa do trabalho, inclui: autoria, o título, local e ano (da defesa).

- título da dissertação/tese deve contemplar o trabalho como um todo, não deve ser uma simples repetição do título de um dos artigos. Desejável ter em torno de quinze palavras, expressando o objetivo geral da pesquisa realizada.

FOLHA DE ROSTO

Às informações constantes na capa adicionar: as informações relativas ao trabalho (dissertação/tese apresentada ao Curso de Mestrado em Tocoginecologia da FCM/UPE, orientada pelo Prof....., como requisito parcial para obtenção do grau de mestre).

FOLHA DA INSTITUIÇÃO

Listar todos os titulares que exercem diferentes cargos na administração da Universidade, ligados à pós-graduação, durante o período que o aluno permaneceu no curso (Reitor, Vice Reitor, Pro Reitor da Pós Graduação, Diretor da faculdade, Coordenador de Pós Graduação da UPE, Coordenador da Pós Graduação da FCM, Coordenador do Programa de Tocoginecologia).

DEDICATÓRIA (opcional)

AGRADECIMENTOS (opcional)

EPIÍGRAFE (opcional)

RESUMO

É o RESUMO geral do documento (somatório dos resumos dos artigos), apresentado sob a forma estruturada, até 500 palavras.

ABSTRACT

Versão do RESUMO em inglês.

SUMÁRIO

Enumeração das seções principais do documento, na ordem que aparece no texto. Utilizar numeração progressiva.

INTRODUÇÃO/CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Esse tópico refere-se à introdução da dissertação. Em duas ou três folhas, devem constar respostas a questões básicas: de onde partiu a idéia central da pesquisa. Como surgiu a motivação (relacionando ao tema/objeto de estudo)? Está relacionado à linha de pesquisa do curso? É uma parte de um projeto de pesquisa maior? Como se deu a estruturação do problema? Qual a

hipótese/pergunta condutora da pesquisa? Quais os objetivos (somatório dos objetivos dos artigos)?

2. Informações sobre os artigos: relacionando com os objetivos (qual o artigo corresponde a tal objetivo), periódico que será/ foi submetido.
3. Neste capítulo se foi citada referências da literatura seguir as normas de citação da ABNT (NBR 6023/2000).

ARTIGOS

Artigo de revisão: Elaborado coma estrutura própria para a publicação, ou seja, conter resumo e *abstract* e o texto propriamente dito. Esse artigo deve responder a uma pergunta condutora própria, que por sua vez está em concordância com o artigo original para que, assim, o artigo de revisão seja o referencial teórico para o artigo original. Em suma, esse artigo passa a ocupar a posição da antiga introdução do modelo tradicional de dissertações e teses, continuando a embasar o leitor para compreender a importância do experimento e como o problema se insere no campo atual do conhecimento científico.

Formatados de acordo com as normas do periódico que foi/será submetido. As normas de publicação devem constar na seção de anexos da dissertação, constando uma chamada no artigo acerca disso. Se já tiver sido aceito para publicação, acrescentar cópias do original enviado e da carta de aceitação (no anexo). O primeiro artigo deve ser apresentado à banca de qualificação, cujo exame será realizado após 15 meses do início do curso. Se já tiver sido publicado, o trabalho deve constar na forma de publicação no periódico.

Artigo original:

Também será elaborado com a estrutura própria de um artigo para publicação, ou seja, conter resumo e *abstract*, introdução, casuística e métodos, resultados e discussão/conclusão, ou seja, segue a estrutura do modelo tradicional de dissertações e teses apenas de uma forma resumida.

Poderão ser seguidas como referência de formação, as normas de publicação de periódico pretendido para esse fim. As normas de publicações devem constar na seção anexos da dissertação constando uma chamada no artigo acerca disso.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Abordar conclusões retiradas da dissertação como um documento completo. A conclusão não é uma repetição dos resultados, mas sim uma boa síntese deles. Constitui-se de respostas às indagações enunciadas na introdução e detalhada nos objetivos. Nas considerações finais o autor se posiciona frente ao problema estudado e poderá incluir recomendações. Podem ser incluídas sugestões de natureza clínica/ prática a metodológicas.

ANEXOS

- Cópia da aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos.
- Cópia do Projeto de Pesquisa (com a data em que foi aprovado pelo colegiado do curso).
- Outras informações importantes para o entendimento da pesquisa desenvolvida e que não constam nos artigos.
- Normas de publicações (Periódico) escolhidas para esse fim

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)