

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

JOSILAINE TONIN RIBAS

**PESQUISA DE MIELOPEROXIDASE E OUTROS MARCADORES
LABORATORIAIS NA GESTAÇÃO**

PONTA GROSSA
2013

JOSILAINE TONIN RIBAS

**PESQUISA DE MIELOPEROXIDASE E OUTROS MARCADORES
LABORATORIAIS NA GESTAÇÃO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Área de Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Rebuglio Velloso

Co-orientador: Prof. Dr. Fábio André dos Santos

PONTA GROSSA
2013

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

Ribas, Josilaine Tonin
R482 Pesquisa de mieloperoxidase e outros
 marcadores laboratoriais na gestação/
 Josilaine Tonin Ribas. Ponta Grossa, 2013.
 49f.

 Dissertação (Mestrado em Ciências
Farmacêuticas - Área de Concentração:
Fármacos, Medicamentos e Biociências
Aplicadas à Farmácia), Universidade
Estadual de Ponta Grossa.

 Orientador: Prof. Dr. José Carlos
Rebuglio Velloso.

 Co-Orientador: Prof. Dr. Fábio André
dos Santos.

 1.Risco cardíaco. 2.Inflamação.
3.Gestação. 4.Mieloperoxidase. I.Velloso,
José Carlos Rebuglio. II. Santos, Fábio
André dos. III. Universidade Estadual de
Ponta Grossa. Mestrado em Ciências
Farmacêuticas. IV. T.

CDD: 616



Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

Associação Ampla entre a
Universidade Estadual do Centro-Oeste e a
Universidade Estadual de Ponta Grossa

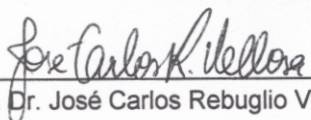


Ata nº. 02/2014

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO – NÍVEL DE MESTRADO, DA PÓS-GRADUANDA JOSILAINE TONIN RIBAS, DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, REALIZADA NO DIA 24 DE FEVEREIRO DE 2014, NA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA.

Ao vigésimo quarto dia do mês de fevereiro de dois mil e quatorze, às 13h00min h, na Sala M 122 da Universidade Estadual de Ponta Grossa, sob a presidência do Prof. Dr. José Carlos Rebuglio Velloso, em sessão pública, reuniu-se a banca examinadora para a defesa de dissertação da pós-graduanda Josilaine Tonin Ribas. Área de concentração: Fármacos, medicamentos e biociências aplicadas à Farmácia. Linha de Pesquisa: Avaliação Clínico/Laboratorial de Processos Fisiopatológicos. A banca foi constituída pelos pesquisadores: Prof. Dr. José Carlos Rebuglio Velloso (Presidente) / UEPG, Prof. Dr. Paulo César Ghedini / IFG e Profa. Dra. Katia Sabrina Paludo / UEPG, indicados pelo egrégio colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – nível de Mestrado Acadêmico, desta Universidade, em associação ampla com a Universidade Estadual do Centro-Oeste. Iniciados os trabalhos, a presidência deu conhecimento aos membros da banca e à candidata das normas que regem a defesa de dissertação e definiu-se a ordem a ser seguida pelos examinadores para a arguição. O trabalho analisado foi **“Pesquisa de mieloperoxidase e outros marcadores laboratoriais na gestação”**. Encerrada a defesa de dissertação, procedeu-se o julgamento, tendo sido a candidata APROVADA. Foi dada ciência à mestranda que, de acordo com o Art. 34 do Regulamento do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas - UNICENTRO/UEPG, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, área de concentração Fármacos, Medicamentos e Biociências aplicadas à Farmácia, o aluno tem o prazo de 30 (trinta) dias após esta defesa para entregar as cópias da versão definitiva, que devem ser aprovadas pelo orientador e homologadas pelo Colegiado de curso. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se à presente ata que vai assinada pelos membros da banca examinadora e por mim, Renata Carneiro, Renata Carneiro, secretária do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas pela UEPG. Ponta Grossa, 24 de fevereiro de 2014

Observação (se necessária):


Prof. Dr. José Carlos Rebuglio Velloso


Prof. Dr. Paulo César Ghedini


Profa. Dra. Katia Sabrina Paludo

AGRADECIMENTOS

Agradeço a participação dos autores deste trabalho: José Carlos Rebuglio Velloso, Gisele Chibinski Parabocz, Luciana Maria Borba, Francine Alessandra Manente e Liliane Werle Lima pela responsabilidade e contribuição técnica. Fabio André dos Santos pelo suporte estatístico.

Agradeço a Fundação Araucária de Fomento à Pesquisa Paranaense.

RESUMO

No período gestacional, algumas mudanças fisiológicas ocorrem nas mulheres, principalmente alterações lipídicas e desenvolvimento de resistência à insulina. Provavelmente, tais alterações estão associadas ao aumento do efeito hepático da progesterona, estradiol e lactogênio placentário nesse período, pois os progestogênios são conhecidos por alterar o perfil de colesterol LDL e diminuir a atividade da lipase hepática. A ocorrência de tais alterações pode indicar probabilidade aumentada, nestas mulheres, em desenvolver doenças aterogênicas no futuro. Além disso, nessa população, nota-se também um aumento do número de neutrófilos e monócitos para a circulação periférica, principalmente das mulheres com pré-eclâmpsia, que tem como consequência desse mecanismo a produção e secreção da mieloperoxidase (MPO). Assim, torna-se importante investigar quais alterações metabólicas e inflamatórias ocorrem na gestação, para auxiliar no diagnóstico e prognóstico de doenças cardiovasculares futuras nesses indivíduos e se a mieloperoxidase pode ser estudada como um novo biomarcador relacionado ao risco cardiovascular e ocorrência de estresse oxidativo. Além da MPO sérica, a determinação da capacidade total antioxidante e identificação de outras alterações laboratoriais, tais como marcadores de inflamação (PCR-us, alfa-1-glicoproteína ácida e leucócitos) para a prevenção, diagnóstico e tratamento de possíveis eventos cardíacos futuros ou marcadores como hemoglobina glicosilada (HbA1c) e glicose que identifiquem ocorrência de diabetes gestacional, são úteis na avaliação da qualidade de vida da gestante e do desenvolvimento fetal. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar parâmetros bioquímicos e imunológicos para a correlação com risco cardiovascular em gestantes a cada trimestre de gestação. Foram obtidos resultados estatisticamente diferentes entre os grupos controle (não gestante) e gestantes (primeiro, segundo e terceiro trimestre) nos seguintes parâmetros: colesterol total, triglicerídeos, capacidade antioxidante total no soro (ABTS), relação ABTS/albumina, proteínas totais, ácido úrico e leucócitos. Foram observados níveis elevados de PCR-us entre os grupos de gestantes, o que a qualifica como parâmetro útil no acompanhamento laboratorial da gestação. Entretanto, não foram observadas alterações significativas nos níveis de MPO, que desta forma, parece não ser um marcador apropriado para a predição de risco de doença cardiovascular em mulheres grávidas.

Palavras-chave: risco cardíaco; inflamação; gestação; mieloperoxidase

ABSTRACT

During pregnancy, some physiological changes occur in women, mostly lipid changes and development of insulin resistance. Probably, these changes are associated with increased hepatic effect of estradiol, progesterone and placental lactogen during this period, because progestins are known to alter the profile of LDL cholesterol and decrease the activity of hepatic lipase. The occurrence of such changes can indicate increased risk in these women, in developing atherogenic diseases in the future. Furthermore, this population also noted an increase in the number of neutrophils and monocytes into the peripheral circulation, especially of women with preeclampsia which has the consequence that the production and secretion mechanism of myeloperoxidase (MPO). Thus, it becomes important to investigate metabolic and inflammatory changes which occur during pregnancy, to assist in the diagnosis and prognosis of future cardiovascular disease in these individuals and myeloperoxidase can be studied as a novel biomarker associated with cardiovascular risk and occurrence of oxidative stress. Addition of serum MPO, the determination of the total antioxidant capacity and identification of other laboratory abnormalities, such as markers of inflammation (CRP, alpha-1-acid glycoprotein and leukocytes) for the prevention, diagnosis and treatment of possible future cardiac events or markers such as glycosylated hemoglobin (HbA1c) and glucose to identify the occurrence of gestational diabetes, are useful in assessing the quality of life of the pregnant woman and the developing fetus. Thus, the aim of this study was to evaluate biochemical and immunological for correlation with cardiovascular risk in pregnant women each trimester parameters. Total cholesterol, triglycerides, serum total antioxidant capacity (ABTS), compared ABTS/albumin, total protein, acid uric: results statistically different between the control (non-pregnant) and pregnant women (first, second and third quarter) the following parameters were obtained acid uric and leukocytes. Elevated levels of CRP between groups of pregnant women, which qualifies as a useful parameter for laboratory monitoring of pregnancy, were observed. However, no significant changes in MPO levels, which thus appears to be a suitable for risk prediction of cardiovascular disease in pregnant women were observed marker.

Keywords: cardiac risk, inflammation, pregnancy, myeloperoxidase

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Média e desvio padrão da Mieloperoxidase.....	pg 30
Figura 2 – Média e desvio padrão da PCR ultrasensível.....	pg 31
Figura 3 – Porcentagens de soros reagentes para PCR látex.....	pg 32
Figura 4 – Boxplot com medianas e quartis dos valores de Alfa-1-glicoproteína ácida.....	pg 32
Figura 5 A – Média e desvio padrão da Capacidade antioxidante total.....	pg 36
Figura 5 B – Média e desvio padrão do Ácido Úrico.....	pg 36
Figura 5 C – Média e desvio padrão da Albumina.....	pg 36
Figura 5 D – Média e desvio padrão das Proteínas Totais.....	pg 36
Figura 6 A – Média e desvio padrão da Capacidade antioxidante total (%) corrigida para os níveis de ácido úrico.....	pg 37
Figura 6 B – Média e desvio padrão da Capacidade antioxidante total (%) corrigida para os níveis de Albumina.....	pg 37
Figura 6 C – Média e desvio padrão da Capacidade antioxidante total (%) corrigida para os níveis de Proteínas Totais.....	pg 37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização dos grupos estudados.....pg 27

Tabela 2 – Média e desvio padrão (intervalo de confiança) das análises laboratoriais para todos os grupos.....pg 28

Tabela 3 – Média e desvio padrão do Hemograma para todos os grupos.....pg 33

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS – ácido acetil salicílico

ABTS - 2,2"-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

AGP – alfa-1-glicoproteína ácida

ANOVA - análise de variância

CAT – capacidade antioxidante total

DMG – diabetes mellitus gestacional

ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

HbA1c – hemoglobina glicosilada

HDL - lipoproteína de alta densidade

IGF-1 - fator de crescimento

IL-1 – interleucina 1

IL-6 – interleucina 6

IMC - índice de massa corporal

LDL - lipoproteína de baixa densidade

MPO – mieloperoxidase

PAPP-A – proteína A

PCRus – Proteína C reativa ultrasensível

SPM - síndrome pré-menstrual

SUS – sistema único de saúde

TBHBA – 2,4,6-tribromo-3-hidroxibenzóico

TG – triglicerídeos

TNF- α - fator de necrose tumoral- α

TPM – tensão pré-menstrual

VBC - verde de bromocresol

VCM - volume corpuscular médio

VLDL – lipoproteína de densidade muito baixa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
3 OBJETIVOS.....	21
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
4.1 Ensaio hematológicos.....	22
4.2 Ensaio imunológicos.....	22
4.2.1 PCR (Látex e Ultrassensível).....	22
4.2.2 Mieloperoxidase.....	23
4.3 Ensaio bioquímicos.....	23
4.3.1 Alfa-1-glicoproteína ácida.....	23
4.3.2 Perfil lipídico.....	23
4.3.3 Glicemia.....	24
4.3.4 Ácido úrico.....	24
4.3.5 Proteínas totais.....	25
4.3.6 Albumina.....	25
4.3.7 Hemoglobina Glicosilada.....	25
4.4 Capacidade antioxidante total.....	25
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	26
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
7 CONCLUSÕES.....	38
9 REFERÊNCIAS.....	39

1 INTRODUÇÃO

A gravidez é caracterizada pelo desenvolvimento significativo de resistência à insulina, resultando em intolerância à glicose e, até mesmo, diabetes mellitus gestacional. O desequilíbrio no metabolismo dos carboidratos leva a hiperglicemia associada a complicações múltiplas. Nas condições fisiológicas, a gestante depara-se com uma alteração brusca em sua rotina, apresentando, em muitas vezes, algumas alterações metabólicas, clínicas e laboratoriais de importância e que podem ser acompanhadas, a fim de garantir melhor qualidade de vida para as gestantes e os fetos (MARTIN et al, 1999).

Sabe-se, por exemplo, que a doença hipertensiva nas gestantes atinge o crescimento fetal durante o terceiro trimestre da gravidez e aumenta o risco de interferentes no nascimento como pré-eclâmpsia e acidente vascular cerebral (BAKKER et al, 2011).

Além disso, na gestação, é comum existir um estado metabólico de resistência à insulina e alterações lipídicas. As alterações no perfil lipídico estão associadas, provavelmente, ao aumento do efeito hepático de progesterona, estradiol e lactogênio placentário nesse período, pois os progestogênios são conhecidos por alterar o perfil de colesterol LDL e diminuir a atividade da lipase hepática, o que permite identificar mulheres que desenvolverão doenças aterogênicas no futuro (MARTIN et al, 1999).

O diabetes que pode ser desenvolvido durante a gestação também está associado ao aumento na produção de radicais livres e diminuição nos sistemas fisiológicos da defesa antioxidante, levando ao estresse oxidativo. O diabetes gestacional costuma, ainda, ser acompanhado de disfunções proteicas e lipídicas, com ocorrência, em alguns casos, de complicações cardiovasculares, que tem, como um dos primeiros sinais da aterosclerose, a disfunção endotelial. Mulheres com histórico de diabetes gestacional podem ter anormalidade na função endotelial, antes que a intolerância à glicose ocorra (ROCHA et al, 2006; REIS et al, 2008).

Neste sentido, é interessante a avaliação laboratorial de mulheres em diferentes trimestres de gestação a fim de se identificar alterações que evidenciem a elevação do risco cardíaco e estresse oxidativo, tais como a mieloperoxidase sérica, proteína C reativa (ultrassensível) e capacidade antioxidante do soro.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Durante a gestação, ocorre armazenamento de gordura com aumento de colesterol LDL e triglicerídeos, havendo um significativo aumento em 50 a 80% da oxidação das gorduras, especificamente a lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), a qual usualmente aumenta cerca de três vezes a partir de quatorze semanas de gestação com diminuição da atividade hepática da lipase, levando ao aparecimento das partículas de lipoproteína de baixa densidade (LDL), mais densas, principalmente no final da gestação. O aumento da LDL está envolvido no aparecimento de doenças coronarianas. Essa fração de colesterol-LDL é mais susceptível à oxidação, levando à formação de células espumosas, iniciando, assim, a disfunção endotelial que, conseqüentemente, resulta em aterosclerose (NELSON et al, 2010; MANKUTA et al, 2010).

Na gestação, ainda, ocorrem alterações nas partículas de lipoproteína de alta densidade (HDL) em um perfil trifásico cujo maior pico, de 40%, ocorre após 14 semanas até 25 semanas de gestação e segue redução até chegar a 32 semanas de gestação, mantendo o nível até a gestante dar à luz (NELSON et al, 2010; MANKUTA et al, 2010). Além disso, durante a gestação, ocorre a hipertrigliceridemia, que é um fator de risco independente para a doença coronariana (GIACOMINI et al, 2013). A dislipidemia aterogênica ocorre por altos níveis de triglicerídeos e baixos de colesterol-HDL (HDL-C), em associação com elevados níveis de partículas de colesterol-LDL (LDL-C), que é um importante preditivo da síndrome metabólica e doença coronariana.

Há alguns anos, foi proposto um marcador bioquímico prático para a avaliação do risco cardiovascular: a relação triglicerídeos e colesterol-HDL (TG/HDL-C). Essa relação elevada correlaciona com LDL-C, partículas de HDL e resistência à insulina (DOBIASOVA, 2001). Bittner et al (2009) avaliaram as mulheres por suspeita de isquemia miocárdica (Avaliação de Síndrome de Isquemia da Mulher), sendo que, em estudos anteriores essa relação era um preditivo independente de eventos cardiovasculares e de mortalidade nas mulheres. O risco demonstrou aumentado nas mulheres com a relação TG/HDL-C maior ou igual a 3,66.

Zoppini et al (2011), avaliaram a relação TG/HDL-C com o aumento da incidência de retinopatia e doença renal crônica em pacientes diabéticos mellitus tipo 2. No início, os pacientes não tinham doença cardiovascular e retinopatia. A relação foi associada com o risco aumentado de retinopatia e doença renal crônica. Os autores concluíram que essa relação pode

ser parâmetro para o tratamento de diabetes mellitus tipo 2, a fim de diminuir os riscos de desenvolver complicações microvasculares, necessitando de mais estudos confirmatórios.

Martin e colaboradores (1999) concluíram que a gravidez normal está associada a mudanças nas frações de LDL, juntamente com triglicerídeos e colesterol em níveis elevados. Principalmente no terceiro trimestre, as mulheres têm um perfil lipídico considerado aterogênico em comparação com não grávidas, e após o parto, podem sofrer consequências como diabetes gestacional e obesidade. Desde a década de 90 são conhecidos mais estudos de mulheres que estão em maior risco de desenvolverem doenças cardiovasculares no futuro devido aos efeitos sobre o perfil lipídico e glicose durante a gestação (MARTIN et al, 1999; SUGULLE et al, 2012).

O excesso de peso durante a gestação pode contribuir para resultados adversos, entre eles, a vida intrauterina sendo nutrida erroneamente, quando associada com o estado nutricional materno inadequado, também pode alterar a expressão genética, a sensibilidade às complicações perinatais e aumento do risco de síndrome metabólica e outras doenças crônicas na vida adulta. As mulheres obesas apresentam risco aumentado para o desenvolvimento de algumas ocorrências gestacionais, como diabetes gestacional, síndromes hipertensivas da gravidez, macrossomia, sofrimento fetal, trabalho de parto prolongado, parto cirúrgico, restrição de crescimento intrauterino, desproporção céfalo-pélvica, trauma, asfixia, morte perinatal e prematuridade (SEABRA et al, 2011).

Além de todas essas características, soma-se a incorreta alimentação pela maioria das gestantes adolescentes, obtendo-se um consumo muito baixo de nutrientes essenciais como as vitaminas C, E e A, o selênio, ferro e zinco, sendo esses elementos que compõe o sistema antioxidante do organismo. Todas essas adaptações metabólicas e imunes que ocorrem nas gestantes conduzem à formação de radicais livres, passando por um estado de alto nível de estresse oxidativo, sendo esse quadro preocupante podendo desenvolver hipertensão quando comparado com gestantes sem complicações ou fatores de risco variados (LIMA et al, 2010).

Segundo Abu-Saad e Fraser (2010), a ingestão de nutrientes na gestação age de maneira importante no crescimento e nascimento fetal. Isso é um fator de risco que pode ser modificado e, desta forma, pode impedir efeitos adversos no resultado do parto. O autor acredita que resultados como o parto prematuro e baixo peso da criança ao nascer estão relacionados com fatores e níveis sócios econômicos, influencia cultural e estilo de vida, principalmente em populações de baixa renda.

Alguns nutrientes são selecionados e requeridos nessa fase da gestação, tais como a ingestão de proteínas - recomendada diariamente para o equilíbrio e deposição na gestação-,

do ácido graxo ômega 3 - muito importante no desenvolvimento do cérebro e sistema nervoso central e essencial na formação de tecido novo-, do ferro - do qual 75% provem da alimentação de carnes -, e de folato - necessário para reações celulares, divisão celular, síntese de DNA e ácidos nucleicos (ABU-SAAD & FRASER, 2010).

O desequilíbrio no metabolismo dos carboidratos leva a hiperglicemia associada a múltiplas complicações (ROCHA et al, 2006). O diabetes gestacional também está associado ao aumento na produção de radicais livres e diminuição nos sistemas fisiológicos de defesa antioxidante, levando ao estresse oxidativo, sempre acompanhado de disfunções proteicas e lipídicas, tais como as complicações cardiovasculares (REIS et al, 2008). Mulheres com histórico de diabetes gestacional podem ter anormalidade na função endotelial antes que a intolerância à glicose ocorra (REIS et al, 2008).

Ultimamente, a probabilidade de desenvolver diabetes após e durante a gestação tem aumentado nessa população. Diabetes mellitus gestacional está entre 2 a 13% das gestações e é um fator de risco para ocorrência futura de diabetes mellitus tipo 2. Gestantes com diabetes mellitus tipo 2 ou diabetes gestacional têm até duas vezes mais risco de desenvolver pré-eclâmpsia. Assim como as doenças cardiovasculares, síndrome metabólica e dislipidemia, também são considerados fatores de risco aumentado para mortalidade e morbidade após a gestação. Ainda não existe uma análise clínica eficiente para detectar mulheres com gravidez complicadas por diabetes ou pré-eclâmpsia que terão doenças cardiovasculares futuras, tais como eventos cardíacos, acidente vascular cerebral, tromboembolismo, dentre outras (SUGULLE et al, 2012).

A gestação também é caracterizada pelo desenvolvimento significativo de resistência à insulina, resultando em intolerância à glicose e desenvolvimento de diabetes mellitus gestacional (DMG). A resistência à insulina, nessas pacientes, é sugerida por dois elementos: a resistência à insulina antes da gestação, sendo hereditária ou adquirida, e um aumento fisiológico da resistência à insulina que ocorre em todas as mulheres durante a segunda metade da gestação. As gestantes com DMG estão sujeitas a terem defeitos tanto na secreção da insulina quanto na sua ação. Contudo, a resistência à insulina na gestação não seria a única causa de diabetes, mas com certeza ela está relacionada com complicações adversas da mãe, como exemplo, a pré-eclâmpsia, poli-hidrâmnio, macrosomia fetal, parto cesáreo, mortalidade perinatal, toco-traumatismo fetal e complicações metabólicas do feto (hipoglicemia, hiperbilirrubinemia, hipercalcemia, eritrocitose) (SOUZA, et al 2012).

A resistência à insulina procede da secreção dos hormônios diabetogênicos através da placenta, entre eles o hormônio de crescimento, cortisol, hormônio lactogênico placentário e a

progesterona, e também ocorre pelo aumento da deposição do tecido adiposo materno, diminuição de exercícios físicos e aumento da ingestão calórica. Assim, o diabetes gestacional ocorre quando o pâncreas não é suficiente para suprimir a resistência à insulina criada por alterações nos hormônios diabetogênicos durante a gravidez (SOUZA, et al 2012).

Essa prevalência no Brasil de diabetes gestacional em mulheres com mais de 25 anos, atendidas no Sistema Único de Saúde (SUS), é de 7,6%. Não só no período gestacional, mas futuramente, as mulheres que desenvolveram diabetes gestacional apresentam um risco de 10% ao ano em desenvolver diabetes, e um risco também aumentado de desenvolver doenças cardiovasculares (SOUZA, et al 2012).

Alguns estudos demonstram que existem evidências de mulheres com pré-eclâmpsia que acabaram por desenvolver doenças cardiovasculares, como infarto agudo do miocárdio, doença isquêmica e tromboembolismo, comparado com as mulheres que não tiveram a hipertensão durante a gravidez. As mulheres com pré-eclâmpsia aumentou os riscos de ter filhos que eram prematuros. Essas são as causas de maior morbidade e mortalidade perinatal (BAKKER et al, 2011).

Na pré-eclâmpsia, nota-se um aumento do número de células do sistema inflamatório, como neutrófilos e monócitos, que se encontram ativadas, e vão para a circulação periférica, principalmente das mulheres com pré-eclâmpsia, fenômeno que, dentre outras alterações, é vivenciado pela produção e secreção excessiva de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. São constituídas de moléculas de radicais livres e citocinas inflamatórias formadas principalmente na mitocôndria celular e são introduzidas no tecido após o momento isquêmico (OLIVEIRA et al, 2010).

Esse mecanismo tem como consequência a produção e secreção da mieloperoxidase. Esta por sua vez, é uma heme proteína derivada dos leucócitos e se encontra armazenada em grande quantidade nos grânulos azurófilos de células em repouso, principalmente os neutrófilos, mas pode ser encontrada nos monócitos e macrófagos teciduais. Esta enzima catalisa a formação de numerosas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, oxidantes que contribuem para o dano tecidual durante a inflamação. Os leucócitos polimorfonucleares se acumulam nos locais de inflamação e contribuem para defesa e dano tecidual por meio de endocitose de corpo estranho e secreção de enzimas intracelulares, como a elastase, endopeptidases e mieloperoxidase (ARNHOLD e FLEMMING, 2010).

Alguns mecanismos bioquímicos estão relacionados com a mieloperoxidase, tais como: catálise da oxidação lipídica, promoção do estresse oxidativo, ativação das proteases e aumento da trombogenicidade, principalmente nessas pacientes, e como consequência, a

formação de células espumosas, agregação plaquetária, ativação de leucócitos, lesão vascular, promoção da aterogênese e formação de trombo. Existe, portanto, o interesse clínico da mieloperoxidase, como um biomarcador inflamatório, o que contribuiria para detecção e avaliação preventiva do risco da doença arterial coronariana, relacionados com placas de ateroma e disfunção endotelial (ROMAN et al, 2008), sendo interessante a investigação nos trimestres de gestação com ou sem complicações relacionadas.

Os macrófagos produzem espécies reativas de oxigênio na fagocitose de patógenos que são importantes no processo de destruição destes microrganismos. Durante esse processo, a enzima NADPH-oxidase catalisa a geração de ânion superóxido, o qual sofre dismutação (espontânea ou catalisada pela superóxido dismutase) e gera peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Este último participa do processo de geração de ácido hipocloroso (HOCl) em uma reação catalisada pela mieloperoxidase na presença de ânions cloreto. O HOCl, por sua vez, pode levar a formação de clorotirosina e outros produtos clorados, os quais resultam em efeitos biológicos adversos (STANKOVIC e MAJKIC-SINGH, 2011).

A mieloperoxidase também participa da produção de radicais tirosila, que pode gerar nitrotirosina por meio da reação com nitratos e ainda oxidarem lipídios. Adicionalmente, as reações de peróxido de hidrogênio e óxido nítrico conduzem ao consumo deste último, responsável pelo tônus vascular e propriedades anti-inflamatórias, reduzindo seus níveis endoteliais (TSIMIKAS et al, 2006).

A mieloperoxidase, ainda, está envolvida na oxidação de LDL-C e na ativação de metaloproteinases, tornando o LDL-C um ligante muito potente para o receptor *scavenger* em macrófagos, formando células espumosas nos vasos sanguíneos, atuando, portanto, de forma pró-aterogênica e participando do processo de instabilidade e ruptura da placa de ateroma (STANKOVIC e MAJKIC-SINGH, 2011).

Observou-se elevada sensibilidade e especificidade na elevação da MPO como biomarcador para o diagnóstico de necrose miocárdica e valor prognóstico para eventos cardiovasculares (ESPORCATTE et al, 2007). Alguns autores relatam aumento da mieloperoxidase em infarto agudo do miocárdio e *angina pectoris*, acompanhado pelo aumento dos níveis de proteína C reativa ultrasensível (LOBBES, 2010). Entretanto, outros autores quantificaram a mieloperoxidase em pacientes com doenças coronarianas estáveis e não encontraram aumento significativo nesse grupo de estudo (KUBALA, 2008).

Há contradição ainda na investigação sobre a utilidade da dosagem laboratorial da mieloperoxidase. Gandley e colaboradores (2008) encontraram resultados elevados da mieloperoxidase em placentas de gestantes com pré-eclâmpsia, enquanto Hung e

colaboradores (2012) analisaram seus níveis nesses mesmos grupos e em bebês prematuros, sem obter os mesmos resultados. Desta forma, há necessidade de estudos adicionais para aplicar na prática clínica as dosagens de mieloperoxidase.

No que diz respeito ao envolvimento da mieloperoxidase em alterações inflamatórias, esta enzima participa na iniciação e propagação da inflamação vascular aguda e crônica devido a alterações na cascata de sinalização celular, a oxidação de lipoproteínas e diminuição do óxido nítrico endotelial, danificando a vasodilatação do endotélio, levando a doença vascular inflamatória (LAU D e BALDUS, 2006).

Segundo Loria e colaboradores (2008), dentre os marcadores inflamatórios para síndrome coronariana aguda, a mieloperoxidase se encontra com valor prognóstico superior à proteína A (PAPP-A). Na gestação é encontrada no plasma, sendo que a proteína C reativa ultrasensível (PCR-us) ainda se sobressai, neste sentido, como biomarcador.

A proteína C reativa é uma proteína de fase aguda e um marcador inflamatório. Ela é sintetizada principalmente nos hepatócitos e possui vida útil de 19 horas. Embora o fígado seja a principal fonte de PCR, os adipócitos e o tecido arterial também a sintetizam. Seus níveis estão aumentados em resposta às infecções ativas ou ao processo inflamatório agudo (VELLOSA et al, 2013). É regulada, dentre outras, pela interleucina-6 e interleucina-1. Antigamente a PCR seria somente um marcador de inflamação vascular, mas hoje, sabe-se que, quando dosada por meio de técnicas de alta sensibilidade, seus níveis podem ser relacionados a eventos cardíacos futuros, até mesmo em pacientes com resultados normais de Troponina T e I. As técnicas para dosagem de PCR-us detectam níveis de PCR muito baixos dessa proteína de fase aguda que desempenha função ativa na aterosclerose, o que demonstra seu valor como biomarcador de risco cardiovascular (SILVA e MORESCO, 2011).

A PCR está presente também em células do músculo liso que estão em artérias ateroscleróticas, e participa em alguns estágios da aterogênese como na expressão de moléculas de adesão, indução de óxido nítrico, alteração da função do complemento e inibição da fibrinólise intrínseca e consequentemente vulnerabilidade da placa de ateroma. Na isquemia coronariana aguda, antes de detectar níveis de troponina, elevação nos níveis de PCR ultrasensível (PCR-us) já são identificados, o que demonstra a presença da inflamação relacionada com a placa vulnerável, mesmo sem ocorrer ainda necrose miocárdica. Isso ocorre em outras patologias como infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral, doença arterial periférica, enfim, doenças que estão relacionadas à morte do tecido cardiovascular. Níveis aumentados de PCR-us e LDL-C, com diminuição do colesterol-HDL,

pioram ainda mais o risco de evento cardiovascular, independente dos fatores de risco como idade, cigarro, obesidade, pressão arterial e diabetes (TSIMIKAS et al, 2006).

A PCR-us também é utilizada na prática clínica obstétrica, isoladamente para o diagnóstico precoce de corioamnionite, na ausência de sinais clínicos de infecção. A corioamnionite histológica em gestantes com ruptura prematura de membranas está associada com parto prematuro, antes de 32 semanas de gestação, e com a alta morbimortalidade perinatal, causada por infecção grave. Iburgüen (2009) encontrou valores amplos de Proteína C reativa (5,2 a 82 mg/L) para o diagnóstico de corioamnionite.

A utilidade da proteína C reativa no soro materno como biomarcador inflamatório para a previsão de corioamnionite histológica e trabalho de parto prematuro, ainda não está bem determinado, pois não estão estabelecidos quais os níveis normais para cada trimestre de gestação. Sugere-se que as determinações em série de PCR quantitativa e medição de PCR de alta sensibilidade seria mais eficiente para o diagnóstico precoce. Altas concentrações de PCR na circulação periférica tem sido associada com a presença de infecção intra-uterina (IBARGÜEN, 2009). Rodríguez e Ramírez (2013), através de amniocentese, observaram aumento da concentração de proteína presente no fluido amniótico de mulheres com a infecção intra-uterina em comparação com o grupo controle.

Existe uma relação entre marcadores do estresse oxidativo (ânion superóxido, malondialdeído, entre outros) e corioamnionite, mas pouco se sabe sobre a determinação no soro materno. Sabe-se da relação direta entre o estresse oxidativo e inflamação, onde espécies reativas de oxigênio e nitrogênio podem causar parto prematuro, mediadas por citocinas pró-inflamatórias (RODRÍGUEZ, 2013).

Fisiologicamente, durante a gestação, há um aumento do óxido nítrico (ON) inibindo a contratilidade do útero e participando da vasodilatação útero e placenta. O aumento do estrogênio estimula as três isoformas de óxido nítrico sintetizado (I e III), favorecendo o útero grávido (RODRÍGUEZ, 2013).

No segundo trimestre de uma gestação normal e patológica, há um aumento da peroxidação lipídica e níveis de marcadores de estresse oxidativo, devido o aumento da tensão de oxigênio durante o segundo trimestre e o declínio no final, principalmente no terceiro trimestre. E este declínio se dá pelo aumento progressivo dos sistemas antioxidantes na mãe, em resposta ao estresse oxidativo gerado durante a gravidez normal (RODRÍGUEZ, 2013).

Heslop e colaboradores (2010) previram um risco maior de mortalidade por doenças cardiovasculares não somente com a MPO isolada, mas também associada à PCR-us, cujos

níveis têm sido associados aos riscos cardiovasculares em pacientes com angina estável e doença cardiovascular já formada (HESLOP et al, 2010).

Segundo Borato e colaboradores (2012), ao investigarem o valor da MPO e PCR-us como biomarcadores para pacientes em tratamento contra o HIV com antirretrovirais, os mesmos apresentam alterações lipídicas com elevações nos níveis de MPO e PCR-us. Os autores observaram que, em indivíduos infectados pelo HIV e que não estavam em tratamento, a PCR não se encontrava elevada, ao contrário da MPO, a qual poderia ser um biomarcador mais precoce para possíveis alterações vasculares inflamatórias. Associação dos dois parâmetros parece ser mais apropriada na aplicação dos mesmos como biomarcadores de risco cardíaco e inflamação.

A inflamação tem um papel importante na aterosclerose, acelerando esse processo e levando a uma ruptura da placa aterosclerótica. Vários estudos clínicos demonstram que alterações nos níveis de PCR ultrasensível estão associadas ao risco de mortalidade, em curto e longo prazo, em pacientes com doença isquêmica cardíaca aguda e crônica, e também naqueles com risco de desenvolver aterosclerose (SILVA e MORESCO, 2011).

O interesse no estudo de proteínas inflamatórias de fase aguda tem crescido nos últimos anos, uma vez que pequenos aumentos em sua produção estão associados a um aumento no risco de doença cardiovascular. Além da PCR, a alfa-1 glicoproteína ácida (α 1-GPA) também é uma proteína de fase aguda e sua secreção é regulada pela interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral- α (TNF- α), importantes mediadores da resposta inflamatória e imune e, desta forma, também torna-se um dos possíveis importantes marcadores de risco cardíaco (PICCIRILLO et al, 2004).

A interleucina 6 é uma citocina pró-inflamatória e mediador intracelular, que é produzida por várias células do organismo, sendo sua concentração plasmática elevada na formação da placa ateromatosa e em sua ruptura. Esta citocina está relacionada com a vulnerabilidade e erosão da placa aterosclerótica e está envolvida na síndrome coronariana aguda, estimulando a produção de fibrinogênio e PCR, produção e secreção de metaloproteinases por macrófagos, agregação plaquetária, expressão de moléculas de adesão e a multiplicação de células musculares lisas vasculares (SILVA e MORESCO, 2011).

A proteína plasmática A (PAPP-A) está associada à gestação e é um peptídeo que encontra-se especificamente elevado em gestantes, sendo mais usada como triagem em investigação de anormalidades cromossômicas no primeiro trimestre de gravidez. Também se encontra presente em outros tecidos placentários como nos fibroblastos, células musculares lisas vasculares e tecidos reprodutivos. É uma proteína de alto peso molecular ligada ao zinco

e pertence ao grupo das metaloproteinases, sendo uma molécula altamente pró-aterosclerótica que estimula o fator de crescimento IGF-1, o qual medeia a aterosclerose. A PAPP-A está presente abundantemente nas placas de ateroma com erosão ou ruptura, mas não em placas estáveis. Alguns estudos sugerem que a PAPP-A em síndrome coronariana aguda não é a mesma da PAPP-A que está presente nos soros das gestantes, por isso requer investigações adicionais para esse biomarcador nesses pacientes em especial (SILVA e MORESCO, 2011).

A albumina exibe numerosas funções biológicas, sendo uma das proteínas mais abundantes no plasma sanguíneo. Esta é a principal proteína extracelular no transporte de fármacos para diferentes alvos moleculares. Além disso, estudos recentes demonstram que a albumina possui propriedades antioxidantes, impede a lipoperoxidação, evita danos ao DNA celular protegendo e formando complexos com radicais livres no ser humano, tendo sido estabelecida relação entre os níveis de albumina e doenças cardiovasculares (FAURE et al, 2005; KANAKIS et al, 2006; DOBRIAN et al, 1993).

A albumina está entre os antioxidantes endógenos mais abundantes no plasma, reduzindo o estresse oxidativo que ocorre continuamente no organismo. Em algumas situações ela pode sofrer alterações funcionais, afetando assim a sua propriedade antioxidante, como por exemplo em pacientes com diabetes mellitus, que está associada a complicações vasculares (BARAKA-VIDOT et al, 2013).

As concentrações de proteínas plasmáticas, particularmente a albumina, estão diminuídas na gravidez, resultando em diminuição da pressão oncótica coloidal (pressão osmótica exercida pelas proteínas plasmáticas) causada pela albuminúria e pelo extravasamento das proteínas no interstício, sendo necessário pelo menos 50g de albumina para elevar a pressão oncótica do plasma nas gestantes, além disso, esta mudança pode alterar também as concentrações plasmáticas máxima de drogas que se ligam altamente às proteínas. Ocorre uma diminuição na diferença entre pressão oncótica coloidal e a pressão capilar pulmonar, predispondo a um edema pulmonar na gestação, principalmente na pré-eclâmpsia (HILL e PICKINPAUGH, 2008).

Nas últimas décadas, também tem sido demonstrada a associação do ácido úrico com o aparecimento de doenças cardiovasculares. O ácido úrico produz radicais aminocarbonil, com efeitos pró-inflamatórios sobre células do músculo liso vascular, acarretando em doenças vasculares. O ácido úrico está relacionado como um marcador de disfunção endotelial, por ser produzido pelo endotélio vascular (LIN et al, 2013).

Em um estudo de seis anos feito em Taiwan, avaliou-se o valor prognóstico dos níveis de ácido úrico para pacientes cardíacos e com doença arterial coronariana. Foram avaliados

pacientes com a doença arterial coronariana e seus fatores de risco, sendo os níveis de ácido úrico determinados no início do estudo. Nesse estudo, os níveis séricos de ácido úrico foi um marcador significativo em prever mortalidade e risco cardíaco, independente dos fatores de risco e pacientes com doença arterial coronariana obstrutiva de alto risco (LIN et al, 2013).

Outro estudo feito com pacientes de doença arterial coronariana estável, prediz a mortalidade nestes indivíduos com elevados níveis de ácido úrico, independente dos fatores de risco, função renal e processo inflamatório (NDREPEPA et al, 2012).

Segundo Oikonen et al (2012) foram avaliados 1985 jovens adultos, com idade média de 30 a 45 anos, relacionando o ácido úrico sérico com outros marcadores vasculares da aterosclerose, como a espessura da íntima e média da artéria carótida, existência de placas ateromatosas da carótida, distensão da carótida e dilatação braquial mediada por fluxo. Entre os parâmetros avaliados nas mulheres, o índice de massa corporal (IMC), creatinina, uso do álcool, triglicerídeos, glicose e adiponectina, são os que se correlacionaram com os níveis de ácido úrico no soro. Nos homens, os parâmetros relacionados foram o IMC, creatinina, triglicerídeos, proteína C reativa, consumo de álcool, colesterol total e adiponectina. Segundo os autores, o ácido úrico está especialmente associado com o IMC, mas os mesmos não encontraram função independente no processo inicial da aterosclerose.

Conhecendo-se o envolvimento de espécies reativas do oxigênio na aterosclerose e risco cardiovascular, a capacidade antioxidante dos indivíduos ganha importância nesse contexto. Wanga et al (2012) encontraram associação da capacidade antioxidante total do soro (CAT) com a ingestão de antioxidantes na dieta e níveis de antioxidantes endógenos no plasma de mulheres na pós-menopausa obesas. Os autores concluíram que há uma associação positiva na determinação da CAT e ingestão de antioxidantes nessas mulheres.

Tuladhar & Rao (2010), avaliaram se o estresse oxidativo desempenha uma função na síndrome pré-menstrual (SPM) de mulheres de faixa etária de 20 a 24 anos, que possuem os sintomas de TPM. Concluiu-se que o estrogênio e a progesterona podem ser os responsáveis pelo perfil antioxidante saudável na TPM. Contudo, uma queda nas concentrações de tióis de proteínas plasmáticas na fase lútea desse grupo de mulheres, provavelmente seria devido à própria natureza pró-oxidante do estrogênio. São ainda necessários estudos que esclareçam a CAT no soro de mulheres durante a gestação e sua associação com biomarcadores inflamatórios e de risco cardiovascular.

É comum também a ocorrência de alterações hematológicas em gestantes. Na gestação, há um aumento do volume sanguíneo total em 40 a 50%. Ocorre tanto aumento do volume plasmático quanto aumento da massa total de eritrócitos e leucócitos na circulação,

mas essa elevação não é proporcional, pois a massa de eritrócitos se eleva mais tarde e em menor proporção que o volume plasmático (cerca de 30%), enquanto o volume plasmático se eleva antes (cerca de 50%), ocasionando então uma hemodiluição, a qual tem como conceito uma adaptação do organismo em suprir às necessidades do transporte de oxigênio para o feto, sendo que a diminuição do hematócrito reduziria a viscosidade sanguínea e, como consequência, a resistência vascular periférica (SOUZA et al, 2002).

A gestação é uma condição fisiológica que demanda maior quantidade de oxigênio e, conseqüentemente, maior quantidade de glóbulos vermelhos. Assim, esta maior necessidade do transporte de oxigênio conduz a maior atividade da eritropoetina, como parte do controle hormonal placentário do ambiente extra-uterino. Nesse sentido há uma hiperplasia eritróide moderada na medula óssea e pequeno aumento dos reticulócitos após a vigésima semana. Como a produção eritrocitária está aumentada, a duração da vida média dos eritrócitos está reduzida no segundo trimestre de gestação, onde a produção é destaque. O volume corpuscular médio (VCM), em consequência, aumenta pela diminuição do diâmetro longitudinal e aumento da espessura da camada ficando mais esférico (REZENDE et al, 2001).

3 OBJETIVOS

Avaliação de parâmetros bioquímicos e imunológicos para a correlação com risco cardiovascular em gestantes a cada trimestre de gestação.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas as amostras de 88 voluntárias, sendo mulheres saudáveis, que não apresentavam doenças infecciosas ou inflamatórias, em faixa etária entre 19 a 40 anos, conforme apresentado na tabela 1, sendo no grupo controle, 25 mulheres não grávidas. No grupo 1 são 22 gestantes no primeiro trimestre (1 a 3 meses de gestação), no grupo 2 são 20 gestantes no segundo trimestre (4 a 6 meses de gestação) e no grupo 3 são 21 gestantes no terceiro trimestre (7 a 9 meses de gestação).

Essas pacientes foram informadas sobre a pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, de acordo com as exigências do Comitê de Ética ao aceitarem participar da pesquisa como voluntárias e responder a uma entrevista sobre seu

estado clínico. O protocolo da pesquisa número 18501/2011 foi aprovado na Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa, conforme o parecer 141/2011.

A pressão arterial de cada paciente foi aferida no momento da coleta de sangue. Outras informações também foram anotadas, como medicamentos ingeridos durante a gestação, por exemplo, vitaminas, ácido fólico e AAS infantil e outras alterações metabólicas como diabetes tipo 1. Coletaram-se 10 mL de sangue, que foram divididos em um tubo para hemograma (EDTA), um tubo para a glicose (fluoreto de sódio) e um tubo seco com gel de separação para soro, na realização dos ensaios imunológicos e bioquímicos. O soro foi armazenado no freezer à temperatura -80°C para ensaios posteriores.

Foram analisados diferentes parâmetros, os quais são descritos a seguir: hematológicos (hemograma completo), imunológicos (Mieloperoxidase e Proteína C reativa – látex e ultrasensível) e bioquímicos (glicemia de jejum, HbA1c, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triglicerídeos, ácido úrico, proteínas totais, albumina e alfa-1-glicoproteína ácida) a fim de se avaliar o estado de saúde dessas voluntárias. Além desses, foi avaliada a capacidade antioxidante total no soro como parâmetro indicativo de estresse oxidativo.

4.1 ENSAIOS HEMATOLÓGICOS

4.1.1 Hemograma Completo

Foi realizado no contador hematológico automatizado Cell-Dyn 1400, e a contagem diferencial de leucócitos, em microscópio óptico, por meio de leitura de lâmina corada pelo método de May-Grünwald-Giemsa (LEWIS *et al*, 2006).

4.2 ENSAIOS IMUNOLÓGICOS

4.2.1 Proteína C Reativa (PCR)

A proteína C reativa foi determinada pelo kit específico da Cepa. A aglutinação do látex foi o método utilizado para a análise semi-quantitativa da PCR. O teste da PCR látex baseia-se na reação imunológica entre a PCR do soro das pacientes e o anticorpo anti-PCR correspondente ligado a partículas de látex. A reação positiva é indicada pela nítida aglutinação das partículas de látex. Para a determinação semi-quantitativa, o valor da diluição deve ser multiplicado pelo fator de conversão 6 (PCR LATEX, 2011). Este ensaio foi quantificado em paralelo com controles normais e patológicos.

A proteína C reativa ultrasensível foi determinada pelo kit específico da DiaSys® (Diagnostic Systems GmbH & Co.KG). A metodologia utilizada é turbidimétrico. As partículas do látex recobertas com anticorpos anti-PCR humana, são aglutinadas por PCR

presente na amostra. O processo de aglutinação provoca um aumento na absorbância proporcional à concentração de PCR na amostra, que é medida por comparação com um calibrador de PCR de concentração conhecida (PCR ULTRASSENSÍVEL, 2008/9). Este ensaio foi realizado com controles normais e patológicos juntamente com as amostras.

4.2.2 Mieloperoxidase (MPO)

Utilizou-se o kit “Human Myeloperoxidase”, fabricado pela Immunology Consultants Laboratory/*Cell Biosciences*, no qual a MPO é determinada por meio de reações específicas com anticorpo anti-MPO humana no teste ELISA tipo sanduíche. A MPO presente no soro reage com anticorpos anti-mieloperoxidase adsorvidos na superfície da placa. Após a lavagem anticorpos anti-MPO conjugados com horseradish peroxidase são adicionados. Depois de outra lavagem, é adicionado o substrato cromógeno (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina). A absorbância em 450nm é proporcional à quantidade de MPO na amostra, que pode ser calculada a partir de uma curva de calibração, conforme instruções do fabricante.

4.3 ENSAIOS BIOQUÍMICOS

Foram realizados no aparelho automático de química clínica, Selectra Júnior, utilizando o soro das pacientes voluntárias, conforme instruções dos fabricantes apresentadas nas instruções de uso dos reagentes e seus devidos controles normais e patológicos. As proteínas totais e albumina foram realizadas no aparelho automatizado Humanstar 80, seguindo as instruções de uso dos reagentes. Todos os ensaios bioquímicos foram realizados juntamente com seus devidos controles normais e patológicos pertencentes ao programa nacional de controle de qualidade (PNCQ) e Controllab.

4.3.1 Alfa-1 Glicoproteína Ácida

Foi utilizado o kit “AGP Kovalent®”. A determinação quantitativa da alfa-1 glicoproteína ácida é realizada no soro através de imunoensaio (reação antígeno-anticorpo) turbidimétrico. A leitura encontrada para as amostras em 340nm é comparada com a curva padrão para se estabelecer o valor da concentração de alfa-1 glicoproteína ácida (AGP, 2010).

4.3.2 Perfil Lipídico

O perfil lipídico das pacientes voluntárias da pesquisa foi analisado por meio da dosagem de colesterol total, HDL-colesterol, triglicerídeos e LDL-colesterol (calculado) no soro.

Para a análise de colesterol total o kit empregado foi o “Colesterol CHOD-PAP Kovalent[®]”, através do teste fotométrico enzimático. O éster de colesterol presente na amostra é hidrolisado e em seguida oxidado, gerando peróxido de hidrogênio. Este, sob ação catalítica da peroxidase, em presença de 4-aminoantipirina e fenol, gera quinonimina, o indicador colorimétrico da reação (Reação de Trinder) (COLESTEROL CHOD-PAP, 2010).

O HDL-colesterol foi determinado através do kit “HDL-C Imuno Kovalent[®]”. Este kit contém anticorpos β -lipoproteína humana, que formam complexos com LDL-colesterol, VLDL-colesterol e quilomícrons, deixando apenas o HDL-colesterol livre para reagir enzimaticamente com a colesterol oxidase e a colesterol esterase. Um dos produtos desta reação é o peróxido de hidrogênio, que sob ação da peroxidase, reage com F-DAOS e 4-aminoantipirina, formando um complexo azul, que pode ser quantificado (HDL-C IMUNO, 2010).

O valor de LDL-C foi estimado pela fórmula de Friedewald ($\text{LDL-C} = \text{Colesterol Total} - \text{HDL-C} + (\text{Triglicerídeos}/5)$), onde $\text{triglicerídeos}/5 = \text{VLDL-C}$ para as amostras que tiverem resultados de triglicerídeos $< 400\text{mg/dL}$ (FRIEDEWALD et al., 1972).

Para a dosagem de triglicerídeos, o kit empregado foi o “Triglicerídeo GPO-PAP Kovalent[®]”. A determinação é realizada através do teste colorimétrico enzimático, utilizando glicerol-3-fosfato-oxidase. Após o rompimento dos triglicerídeos através da lipoproteína lipase, ocorre uma série de reações que levam à produção de quinonimina (Reação de Trinder), composto colorido que é, então, mensurado (TRIGLICERÍDEOS GPO-PAP, 2010).

4.3.3 Glicemia de Jejum

A glicemia das voluntárias foi dosada através do kit “Glicose GOD-PAP Kovalent[®]”. Neste kit, um sistema enzimático utilizando glicose oxidase e peroxidase, gera o composto colorido quinonimina, proporcional à concentração de glicose na amostra. O valor obtido para amostra em 500nm é comparado ao valor encontrado para o padrão ou calibrador (GLICOSE GOD-PAP, 2010).

4.3.4 Ácido Úrico

O ácido úrico foi determinado pelo kit específico da Kovalent[®]. A metodologia utilizada é enzimática fotométrica. O ácido úrico, presente no soro, é oxidado a alantoína pela enzima uricase, gerando também peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio reage com o ácido 2,4,6-tribromo-3-hidroxibenzóico (TBHBA), dando origem ao indicador colorimétrico quinonimina (ÁCIDO ÚRICO, 2010).

4.3.5 Proteína Total

As proteínas totais foram determinadas pelo kit específico da IN VITRO. A metodologia utilizada é colorimetria por biureto. As proteínas reagem com o biureto desenvolvendo uma coloração roxa proporcional à concentração proteica da amostra (PROTEINA TOTAL, 2010).

4.3.6 Albumina

A albumina foi determinada pelo kit específico da IN VITRO. A metodologia empregada é por colorimetria pelo verde de bromocresol (VBC). No pH de 4,0 a albumina é ligada ao verde de bromocresol e muda a sua coloração para verde. A cor desenvolvida é diretamente proporcional à concentração de albumina presente na amostra e possui absorção máxima em 630 nm (ALBUMINA, 2010).

4.3.7 Hemoglobina Glicada (HbA1c)

A verificação do controle glicêmico das pacientes foi feita através da determinação da hemoglobina glicada. Para tal, utilizou-se o equipamento Dia Fast da Prime Diagnostics. Este equipamento emprega a metodologia de cromatografia de baixa pressão para pesquisa de HbA1c em amostras de sangue total (HbA1C, 2011). Este ensaio foi realizado com seus devidos controles normais e patológicos.

4.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (CAT)

A CAT do soro foi mensurada através do método baseado no 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS). Neste método, o radical monocation pré-formado de ABTS ($ABTS^{\bullet+}$) é gerado pela oxidação com persulfato de potássio. Para o estudo das amostras, a solução estoque de $ABTS^{\bullet+}$ foi diluída com água deionizada até obter-se uma absorbância próxima de 0,70 em 734nm. Em seguida, a amostra foi adicionada ao ABTS oxidado e a absorbância foi medida novamente. Antioxidantes presentes na amostra capturam o radical cátion em um grau proporcional às suas concentrações (RE *et al.*, 1999). O resultado foi expresso como porcentagem de radical capturado, comparando os resultados com um controle sem soro. Todas as amostras foram mensuradas em triplicata.

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados no programa SPSS (SPSSTM version 18 for Windows, SPSS do Brasil, São Paulo, SP, Brasil). Os dados das pacientes foram apresentados como intervalo de confiança da média, média e desvio padrão para as variáveis contínuas e como número e porcentagens para variáveis categóricas. Após a verificação da normalidade dos dados, para as variáveis que não demonstraram uma distribuição normal, foi utilizada a regressão logarítmica antes da realização de análises paramétricas. As possíveis diferenças entre os grupos foram encontradas utilizando o teste de Kruskal-Wallis para as variáveis categóricas e análise de variância (ANOVA) seguida do pós-teste de Tukey para as variáveis contínuas. Em todos os testes, o nível de significância foi considerado como $p < 0,05$.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Oitenta e oito voluntárias preencheram os critérios de inclusão, e as características dos grupos das gestantes e não gestantes (Controle) são comparadas na Tabela 1. A média das idades das mulheres foi semelhante entre os quatro grupos, demonstrando que a população do estudo foi homogênea. Os grupos das gestantes, principalmente as do segundo trimestre mostrou mais casos de hipertensão arterial e diabetes mellitus em relação ao controle, de acordo com a entrevista realizada. No grupo 1 são 22 gestantes no primeiro trimestre (1 a 3 meses de gestação), e nesse grupo somente uma gestante desenvolveu hipertensão na sua última gestação. No grupo 2 são 20 gestantes no segundo trimestre (4 a 6 meses de gestação), e já nesse grupo duas apresentaram hipertensão e duas desenvolveram diabetes ou eram portadoras. No grupo 3 são 21 gestantes no terceiro trimestre (7 a 9 meses de gestação), e uma gestante hipertensa. Dados sobre ocorrência de outras alterações metabólicas não foram fornecidos, bem como a ocorrência de tabagismo.

Tabela 1 – Caracterização dos grupos estudados: Controle não gestantes (C), Gestantes no 1º trimestre (G1), Gestantes no 2º trimestre (G2), Gestantes no 3º trimestre (G3).

Características	C (n=25)	G1 (n=22)	G2 (n=20)	G3 (n=21)	Valor p
Idade (média ± DP)	26,8±5,6	27,5±6,0	28,7±5,9	27,9±5,9	0,763
Hipertensas	0	1	2	1	<0,05
Diabéticas	0	0	2	0	<0,05

(p<0,05 ANOVA com pós-teste de Tukey).

A tabela 2 mostra as diferenças significativas dos grupos das gestantes e não gestantes (Controle) para alguns parâmetros laboratoriais: colesterol total, LDL-colesterol, triglicerídeos, albumina, proteínas totais e CAT(ABTS). Para outros parâmetros bioquímicos como glicose jejum, hemoglobina glicosilada, HDL-colesterol, ácido úrico não mostraram diferenças significativas entre os grupos.

Scopel e colaboradores (2012) verificaram que, dentre as mulheres que obtiveram níveis elevados de colesterol total, 50% desenvolveram e 50% não desenvolveram a doença hipertensiva específica da gravidez, representando que o colesterol total não é um marcador ideal para prever o aparecimento de pré-eclâmpsia. Os autores obtiveram a mesma conclusão com o colesterol-LDL, HDL e triglicerídeos. Apesar desses resultados, a relação entre pré-eclâmpsia e aterosclerose indica a necessidade de um cuidado melhor com a dieta lipídica. Segundo esse mesmo autor foi encontrado uma relação entre as provas de atividade inflamatória, entre elas a proteína C reativa (PCR) e pré-eclâmpsia. Verificaram uma relação de 40% de pacientes que desenvolveram a pré-eclâmpsia e tinham esse biomarcador alterado. Também verificaram uma sensibilidade baixa (40%) em relação a este marcador e uma especificidade aumentada (63%).

Tabela 2 – Média $\pm$ desvio padrão (intervalo de confiança) das análises laboratoriais para os grupos: Controle não gestantes (C), Gestantes no 1º trimestre (G1), Gestantes no 2º trimestre (G2), Gestantes no 3º trimestre (G3).

Parâmetros laboratoriais	C (n=25)	G1 (n=22)	G2 (n=20)	G3 (n=21)
Glicose (mg/dL)	83,4 $\pm$ 12,5 ^a (78,2 – 88,5)	79,8 $\pm$ 6,9 ^a (76,7 – 82,9)	85,5 $\pm$ 42,3 ^a (65,7-105,3)	76,2 $\pm$ 11,7 ^a (70,8 – 81,5)
HbA1c (%)	4,5 $\pm$ 0,4 ^a (4,3-4,7)	4,4 $\pm$ 0,4 ^a (4,2-4,6)	4,7 $\pm$ 1,2 ^a (4,2-5,3)	4,5 $\pm$ 0,4 ^a (4,3-4,7)
HDL-colesterol (mg/dL)	62,6 $\pm$ 16,2 ^a (55,9-69,3)	58,1 $\pm$ 12,1 ^a (52,7-63,5)	60,1 $\pm$ 11,7 ^a (54,6-65,5)	59,1 $\pm$ 14,1 ^a (52,66-65,5)
LDL-colesterol (mg/dL)	103,8 $\pm$ 24,6 ^a (93,6-114,0)	93,8 $\pm$ 22,6 ^a (83,8-103,8)	128,9 $\pm$ 37,6 ^b (111,2-46,5)	139,4 $\pm$ 33,5 ^b (124,1-154,7)
Colesterol total (mg/dL)	184,6 $\pm$ 29,6 ^a (172,3 – 196,8)	173,2 $\pm$ 31,9 ^a (159,0 – 187,4)	227,7 $\pm$ 45,5 ^b (206,4- 249,0)	244,4 $\pm$ 42,6 ^b (225,0 – 263,8)
Triglicérides (mg/dL)	91,5 $\pm$ 32,0 ^a (78,3-104,7)	105,6 $\pm$ 51,3 ^a (82,9-128,4)	193,9 $\pm$ 84,3 ^b (154,4-233,3)	217,9 $\pm$ 71,1 ^b (185,5-250,3)
Ácido úrico (mg/dL)	3,6 $\pm$ 0,9 ^a (3,2-3,9)	3,3 $\pm$ 0,6 ^a (3,0-3,6)	3,5 $\pm$ 0,70 ^a (3,2-3,8)	3,9 $\pm$ 0,6 ^a (3,6-4,2)
Albumina (mg/mL)	4,1 $\pm$ 0,2 ^a (3,9-4,3)	4,0 $\pm$ 0,2 ^a (3,8-4,2)	3,7 $\pm$ 0,2 ^b (3,4-4,3)	3,5 $\pm$ 0,2 ^b (3,3-4,1)
Proteínas Totais (mg/mL)	6,7 $\pm$ 0,4 ^a (6,3-7,1)	6,8 $\pm$ 0,3 ^a (6,5-7,1)	6,5 $\pm$ 0,4 ^b (6,1 -6,9)	6,5 $\pm$ 0,6 ^b (5,9-7,1)
Alfa-1-glicoproteína-ácida (mg/dL)	71,3 $\pm$ 18,8 ^a (52,5-90,1)	90,0 $\pm$ 17,6 ^b (72,4-107,6)	87,2 $\pm$ 21,4 ^a (65,8-108,6)	83,3 $\pm$ 21,6 ^a (61,7-104,9)
ABTS (%)	59,9 $\pm$ 1,9 ^a (59,1-60,7)	46,6 $\pm$ 4,3 ^b (44,7-48,5)	45,7 $\pm$ 3,7 ^b (44,0-47,5)	43,8 $\pm$ 2,45 ^b (42,6-44,9)
Mieloperoxidase (µg/L)	48 $\pm$ 33 ^a (34-62)	63 $\pm$ 25 ^a (52-75)	75 $\pm$ 71 ^a (41-108)	90 $\pm$ 114 ^a (38-143)
PCR-us (mg/L)	3,0 $\pm$ 2,8 ^a (1,8 – 4,1)	4,6 $\pm$ 5,5 ^b (2,2 – 7,1)	7,3 $\pm$ 4,9 ^c (5,0 – 9,6)	7,0 $\pm$ 6,8 ^c (3,9 – 10,1)

Horizontal: Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos (p<0,05, ANOVA com pós-teste de Tukey).

Em relação aos parâmetros inflamatórios, a alfa-1 glicoproteína ácida apresentou diferença significativa para o grupo controle somente relacionada ao grupo 1 de gestantes do primeiro trimestre. A PCR ultrasensível demonstrou diferença entre o controle e os grupos de gestantes. Das quatro grávidas hipertensas, somente duas apresentaram aumento na PCR-us. Durante a gestação são observadas alterações laboratoriais que poderiam estar relacionadas a um maior risco de eventos cardíacos futuros.

Para a MPO, no entanto, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, conforme a Figura 1. Somente uma gestante que pertence ao grupo do terceiro trimestre apresentou uma concentração de 542 ng/ml de MPO. No momento da coleta, essa gestante não apresentava hipertensão e não era diabética, mas outros parâmetros apresentaram alterados como leucócitos, consequentemente número de neutrófilos, colesterol total e triglicerídeo, PCR látex e PCR-us. Níveis de MPO acima de 350 ng/ml são considerados ponto de corte para risco cardiovascular alto (BALDUS et al, 2003) e neste caso, tal gestante, provavelmente apresentava outros fatores de risco não relacionados à gestação e que não foram relatados.

A mieloperoxidase é uma enzima liberada pela ativação e pela degranulação de leucócitos polimorfonucleares na microcirculação coronariana nas síndromes coronarianas agudas. Na aterosclerose, a MPO está envolvida na oxidação da fração lipoprotéica de baixa densidade do colesterol (LDL-C) e na ativação de metaloproteinases, participando da instabilização e da ruptura da placa (ESPORCATTE et al, 2007). Consequentemente o aumento de mieloperoxidase encontrada nesse grupo de gestantes, poderia ser um sinal de aparecimento do processo aterosclerótico e eventos cardiovasculares futuros, mas não foram encontradas diferenças significativas nas amostras analisadas.

O resultado observado para mieloperoxidase entre os grupos pode ser explicado devido à existência de elevados valores para os desvios padrão encontrados nos grupos. Tais desvios podem ser resultados de uma variabilidade natural do ser humano ou ainda consequência de fatores desconhecidos e não analisados neste estudo para alguns indivíduos da população, tais como variações no IMC, hábitos alimentares, ocorrência de eventos cardiovasculares prévios, situação socioeconômica, dentre outros. Além disso, os leucócitos podem não estar ativados pela gestação "per se" e, portanto, a MPO pode não ter sido liberada, por não se tratar de uma condição patológica e sim fisiológica, mesmo as gestantes apresentando um perfil lipídico alterado e aumento na contagem absoluta de neutrófilos.

Foram realizadas correlações de Pearson dos três trimestres para os ensaios de MPO e PCR-us e para MPO e neutrófilos. Esses parâmetros não apresentaram correlações positivas

em nenhum grupo, onde o p foi maior que 0,05 e o r próximo de zero. Assim mesmo, os resultados devem ser analisados com cautela para essa população, uma vez que em pesquisas com seres humanos, muitas variáveis não são controladas.

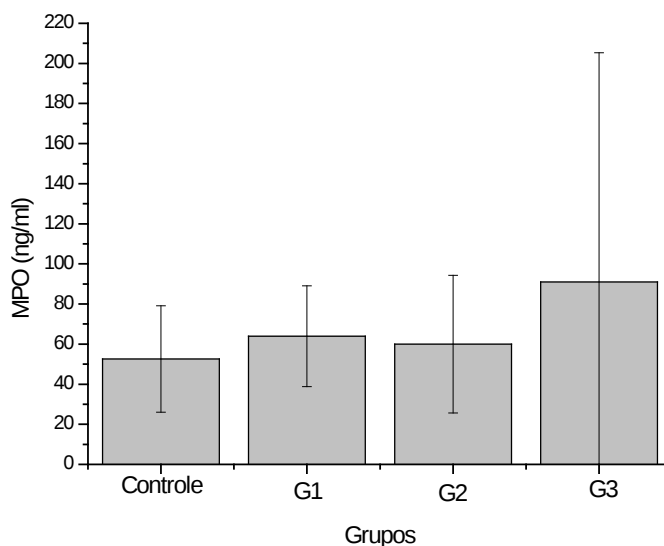


Figura 1 – média e desvio padrão da mieloperoxidase. Não houve diferença significativa entre os grupos. Controle (não gestante), G1 (gestantes primeiro trimestre), G2 (gestantes segundo trimestre), G3 (gestantes terceiro trimestre).

* Diferença estatística para o controle.

Níveis de PCR-us acima de 3mg/L estão relacionados com eventos cardíacos futuros em pacientes hipertensos tratados, diabéticos e com doenças arteriais coronarianas (SAITO et al, 2003). As concentrações elevadas de PCR-us foram observadas em 15% do grupo controle (não grávidas), 38% do primeiro trimestre, 84% do segundo trimestre e 70% do terceiro trimestre de gestação, conforme a figura 2. Desta forma, durante a gestação podem ocorrer alterações fisiológicas que podem ocasionar um maior risco de ventos cardíacos para este grupo, que, desta forma, precisa ser acompanhado de perto quanto aos parâmetros de risco cardíaco possam ser controlados, principalmente no que diz respeito aos parâmetros modificáveis.

A inflamação tem um papel importante na aterosclerose. São liberadas altas quantidades de citocinas pró-inflamatórias pelo tecido adiposo, estimulando a produção hepática de PCR, acelerando o processo inflamatório e levando à ruptura da placa aterosclerótica, a qual está associada ao diabetes e aparecimento de doenças cardiovasculares por vários mecanismos de ação: resistência à insulina (alteração da sensibilidade), aumento da

liberação das células de adesão pelo endotélio vascular, aumento da liberação hepática de fibrinogênio e efeito pró-coagulante das plaquetas (BRASIL et al, 2007).

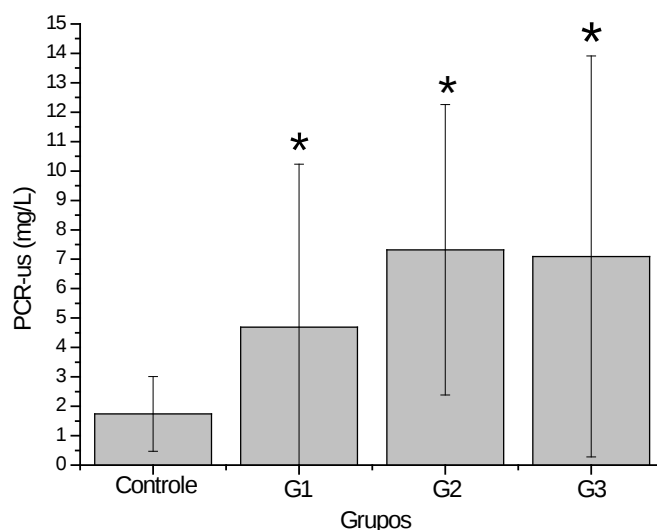


Figura 2 – média e desvio padrão da PCR ultrasensível. Houve diferença significativa entre os grupos. Controle (não gestante), G1 (gestantes primeiro trimestre), G2 (gestantes segundo trimestre), G3 (gestantes terceiro trimestre).

* Diferença estatística para o controle.

As proteínas de fase aguda, PCR e alfa-1-glicoproteína ácida, estão elevadas em um processo inflamatório e neste estudo observou-se diferença significativa entre os grupos nos valores de PCR látex e ultrasensível, mas não para alfa-1-glicoproteína ácida, conforme é apresentado nas figuras 3 e 4.

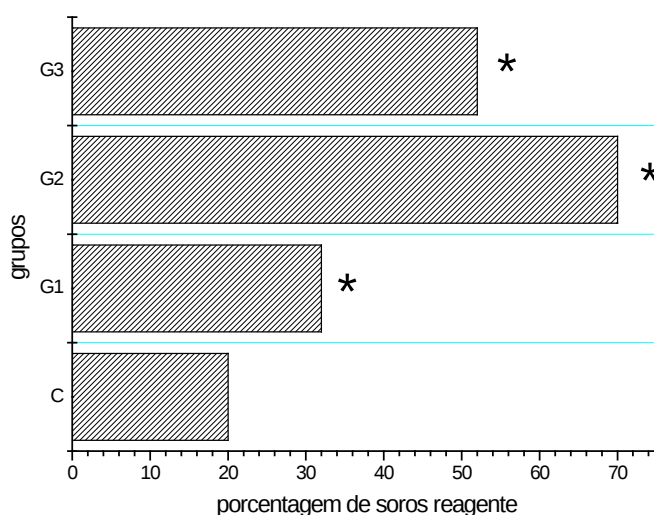


Figura 3 – Porcentagens de soros reagentes (≥ 6 mg/dL) para PCR látex nos diferentes grupos estudados. * $p < 0,05$ em relação ao controle.

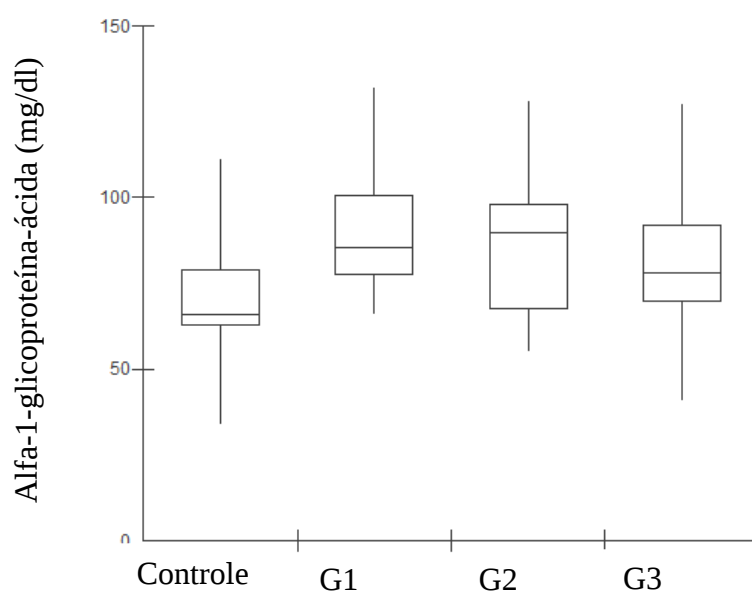


Figura 4 – Boxplot com medianas e quartis dos valores de alfa-1glicoproteína ácida (mg/dl). Não houve diferença significativa entre os grupos.

Em relação aos leucócitos totais observou-se diferença entre os três grupos de gestantes e controle, e consequentemente, um aumento da contagem do número de neutrófilos. Isto ocorre na gestação devido a uma supressão imunológica de linfócitos T, tanto

humoral quanto celular, na tentativa do organismo se defender contra um “corpo estranho”. A função dos leucócitos polimorfonucleares tende a diminuir no segundo trimestre mantendo-se nesse nível até o final da gestação (SOUZA et al, 2002). O aumento do número de leucócitos também está associado ao estado de resistência à insulina e a hiperinsulinemia (VOZAROVA, 2002). Os parâmetros hematológicos são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Media $\pm$ desvio padrão do hemograma para os grupos: Controle não gestantes (C), Gestantes no 1º trimestre (G1), Gestantes no 2º trimestre (G2), Gestantes no 3º trimestre (G3).

Parâmetros	C (n=25)	G1 (n=22)	G2 (n=20)	G3 (n=21)
Hemácias (M/ μ L)	4,50 $\pm$ 0,36 ^a	4,29 $\pm$ 0,30 ^a	4,07 $\pm$ 0,32 ^b	4,08 $\pm$ 0,36 ^b
Hemoglobina (g/dL)	13,1 $\pm$ 0,79 ^a	12,7 $\pm$ 0,90 ^a	11,9 $\pm$ 0,97 ^b	12,2 $\pm$ 0,97 ^b
Hematócrito (%)	38,8 $\pm$ 2,47 ^a	37,2 $\pm$ 2,60 ^a	35,1 $\pm$ 2,82 ^b	35,7 $\pm$ 2,72 ^b
VMC (fL)	86,65 $\pm$ 5,56 ^a	86,70 $\pm$ 2,91 ^a	86,32 $\pm$ 4,89 ^a	87,67 $\pm$ 4,47 ^a
HCM (pg)	29,21 $\pm$ 1,18 ^a	29,55 $\pm$ 1,30 ^a	29,41 $\pm$ 1,97 ^a	30,16 $\pm$ 1,87 ^a
CHCM (g/dL)	33,78 $\pm$ 1,40 ^a	34,06 $\pm$ 0,83 ^a	34,07 $\pm$ 1,00 ^a	34,41 $\pm$ 1,12 ^a
Leucócitos (cél/mL)	7500 $\pm$ 2038 ^a	7540 $\pm$ 2057 ^a	8605 $\pm$ 1582 ^{ab}	10398 $\pm$ 2990 ^b
Linfócitos (cél/mL)	36,15 $\pm$ 8,9 ^a	28,1 $\pm$ 8,9 ^b	21,8 $\pm$ 7,7 ^b	20,1 $\pm$ 7,9 ^b
Monócitos (cél/mL)	5,35 $\pm$ 2,5 ^a	5,5 $\pm$ 1,8 ^a	5,1 $\pm$ 1,8 ^a	5,7 $\pm$ 2,0 ^a
Neutrófilos (cél/mL)	55,8 $\pm$ 9,9 ^a	64,1 $\pm$ 8,7 ^b	71,2 $\pm$ 7,0 ^b	72,3 $\pm$ 8,9 ^c
Plaquetas (10 ³ /mL)	266,10 $\pm$ 60,65 ^a	258,59 $\pm$ 42,80 ^a	210,10 $\pm$ 28,40 ^{ab}	237,76 $\pm$ 49,52 ^a

Horizontal: Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos ($p < 0,05$, ANOVA com pós-teste de Tukey).

M/ μ L-milhões por microlitro; g/dL-gramas por decilitro, FL-fentolitros; pg-picograma; células/mL-células por mililitro; VCM-volume corpuscular médio; HCM - hemoglobina corpuscular média, CHCM - concentração de hemoglobina corpuscular média.

Lurie et al (2008) encontraram valores de referência para contagem total e diferencial de leucócitos para gestações sem complicações em cada trimestre separadamente. O autor acredita que esses valores de referência podem ajudar o clínico na diferença entre leucocitose fisiológica e de uma patologia durante a gestação. Encontraram contagens de leucócitos e

neutrófilos significativamente aumentados do primeiro ao terceiro trimestre. Os monócitos aumentaram somente durante o terceiro trimestre. A contagem de eosinófilos não modificou durante a gestação, e os basófilos diminuíram durante o segundo trimestre e voltou aos valores iniciais durante o terceiro trimestre. Nossos dados estão de acordo com os destes autores, pois foram estudadas gestantes normais, realizando contagem total e diferencial durante um processo fisiológico, diferenciando de uma patologia, a qual deve ser examinada com cautela, juntamente com os parâmetros laboratoriais. Ocorre uma leucocitose mediada por adrenocorticóides na gestação, que provoca o aumento dos glóbulos brancos em até $14.000/\text{mm}^3$ podendo chegar a $30.000/\text{mm}^3$ em trabalho de parto e puerpério (HILL e PICKINPAUGH, 2008).

Na gestação, existe, ainda, uma anemia fisiológica, na qual a hemoglobina apresenta-se diminuída devido ao aumento em volume de plasma em relação ao volume de eritrócitos, resultando em diluição fisiológica. Tal fato pode ser observado na Tabela 3 em que são apresentados os resultados dos hemogramas realizados nas voluntárias da presente pesquisa. O hematócrito normal de gestação varia aproximadamente de 32% a 34%, em relação às mulheres não grávidas, e a passagem de ferro para o feto contribui ainda mais para essa anemia. A contagem de plaquetas pode se apresentar mais baixa na gravidez, devido à agregação, mesmo assim, ainda permanece dentro dos valores de referência (HILL e PICKINPAUGH, 2008).

A capacidade antioxidante total (CAT) no soro é definida neste trabalho como a porcentagem de captura do radical livre pelo soro em tampão fosfato de sódio 10 mM. Esta porcentagem de captura é dada pela variação da absorbância da solução de radical livre em 734nm na presença do soro. Desta forma, quanto menor a absorbância do teste, maior a concentração de antioxidantes presentes no soro, pois maior foi a captura do radical. O grupo em que se observar maior queda (menor absorbância), é o grupo com maior disponibilidade de antioxidantes no soro, o que não significa necessariamente que este grupo terá menor estresse oxidativo, pois a elevação dos antioxidantes totais no soro pode ser uma reação do organismo decorrente de uma tentativa em responder a um possível estresse oxidativo corrente. Este teste não é específico à medida que, por exemplo, essa maior ação antioxidante poderia ser decorrente de uma elevação na concentração das proteínas do soro ou do ácido úrico, por exemplo. Esta elevação dos níveis de proteínas pode ser consequência de uma desidratação, menor taxa de eliminação ou maior taxa de produção de proteínas específicas (RE et al, 1999).

A capacidade antioxidante total no soro (CAT) conforme apresentado na figura 5-A, nos diferentes períodos de gestação, encontrou-se reduzida quando comparada ao grupo controle. Isto poderia ser explicado, em parte, pela diminuição significativa das proteínas totais e albumina.

No presente trabalho, houve uma diminuição na concentração da albumina no segundo e terceiro trimestre de gestação, como apresentado na figura 5-C. As concentrações de proteínas plasmáticas, particularmente a albumina, estão diminuídas na gravidez sendo este um processo fisiológico (HILL e PICKINPAUGH, 2008). Os níveis de albumina, por exemplo, na pré-eclâmpsia, podem estar baixos em consequência do extravasamento de proteína para o interstício, e não pela perda renal ou disfunção hepática, esse fenômeno é chamado de *capillary leak* (PASCOAL, 2002). As proteínas totais apresentaram diferenças significativas do grupo 2 e 3 em relação ao grupo controle (figura 5-D).

Além das proteínas, os níveis de ácido úrico também podem interferir na capacidade antioxidante do soro. Em nosso estudo, as concentrações de ácido úrico não apresentaram diferenças significativas, como demonstradas na figura 5-B. Em um estudo de Laughon et al (2009), a elevação dos níveis de ácido úrico no meio da gestação foi associado com a resistência à insulina. Além disso, a hiperuricemia foi associada com baixo peso da criança ao nascer em mulheres normotensas, e este efeito foi diminuído pela resistência à insulina.

Os níveis de ácido úrico estão aumentados em gestantes de 24 a 28 semanas com diagnóstico de diabetes gestacional, quando comparadas com mulheres sem diabetes. O aumento dos níveis de ácido úrico na gestação evidenciou ser um fator de risco para desenvolver diabetes tipo 2. No estudo de Laughon et al (2009), comprovaram que o ácido úrico em concentrações maiores ou igual a 3,6 mg/dL no início da gestação, está associado ao aumento de três vezes o risco em desenvolver diabetes gestacional (LAUGHON et al, 2009).

Durante a gravidez, normalmente, o fluxo de filtração glomerular e o clearance de ácido úrico aumentam, mas concentrações séricas de creatinina superior a 0,9 mg/dl e níveis de ácido úrico superior a 5 mg/dl, são considerados anormais em mulheres grávidas, necessitando de investigação. Na pré-eclâmpsia, a lesão renal pode ser causada pelo aumento da excreção proteica e também pela diminuição da filtração glomerular e do clearance de ácido úrico, consequentemente causando hiperuricemia (PASCOAL, 2002).

No presente trabalho, a glicose e a hemoglobina glicosilada estão normais, então não há pacientes diabéticas ou que não estão controladas, talvez por esse motivo o ácido úrico esteja normal e consequentemente, não haveria a ocorrência de disfunção endotelial nestas mulheres.

A figura 6 apresenta os valores de CAT (%) corrigidos para os níveis de ácido úrico, albumina e proteínas totais, evidenciando diferenças entre os grupos de gestantes frente ao controle, para este parâmetro. O estresse oxidativo pode ser definido como sendo um distúrbio no equilíbrio de pró-oxidantes e antioxidantes, acarretando danos em moléculas de lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos. O estresse oxidativo pode ser resultante de níveis baixos de antioxidantes e/ou consequência de um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. A atividade antioxidante das diferentes moléculas está relacionada às suas propriedades redox de acordo com sua constituição química. Como a albumina tem a capacidade de se ligar a diferentes moléculas e íons metálicos, e considerando a CAT um parâmetro indicativo de estresse oxidativo, esta se relaciona com antioxidantes endógenos, tais como albumina, proteínas totais e ácido úrico (ROCHE et al, 2008).

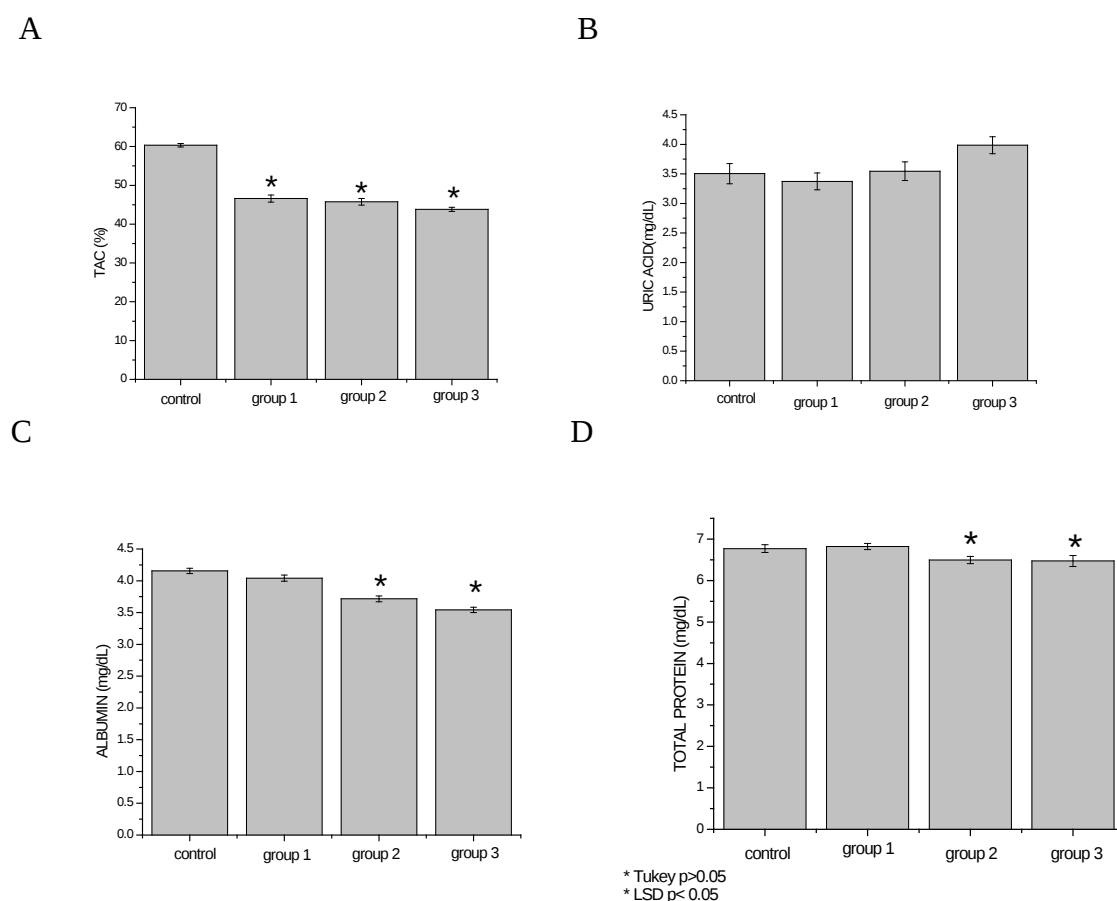


Figura 5 – Média e desvio padrão da Capacidade antioxidante total (%) - A; Ácido úrico (mg/dl) - B; Albumina (mg/dl) – C; Proteínas Totais (mg/dl) – D, para grupos controle (não gestante), grupo1 (gestantes primeiro trimestre), grupo 2 (gestantes segundo trimestre) e grupo 3 (gestantes terceiro trimestre).

* Diferença estatística para o controle.

Desta forma, a capacidade antioxidante total avaliada sofre interferência de diferentes moléculas dissolvidas no soro e, portanto, a análise de quanto cada uma das moléculas pode interferir nesta capacidade antioxidante torna-se interessante.

Foram realizadas correlações de Pearson em todos os trimestres, tendo uma correlação positiva no primeiro trimestre entre os ensaios da capacidade antioxidante total (CAT) e proteínas totais, onde o p foi igual a 0,0027. No segundo trimestre as proteínas totais e a albumina apresentaram correlação positiva, onde o p foi igual a 0,0001. No terceiro trimestre houve correlação positiva entre os níveis de proteínas totais e a capacidade antioxidante total, onde o p foi igual a 0,0000 e no mesmo trimestre houve correlação positiva entre CAT e albumina, onde o p foi igual a 0,0305.

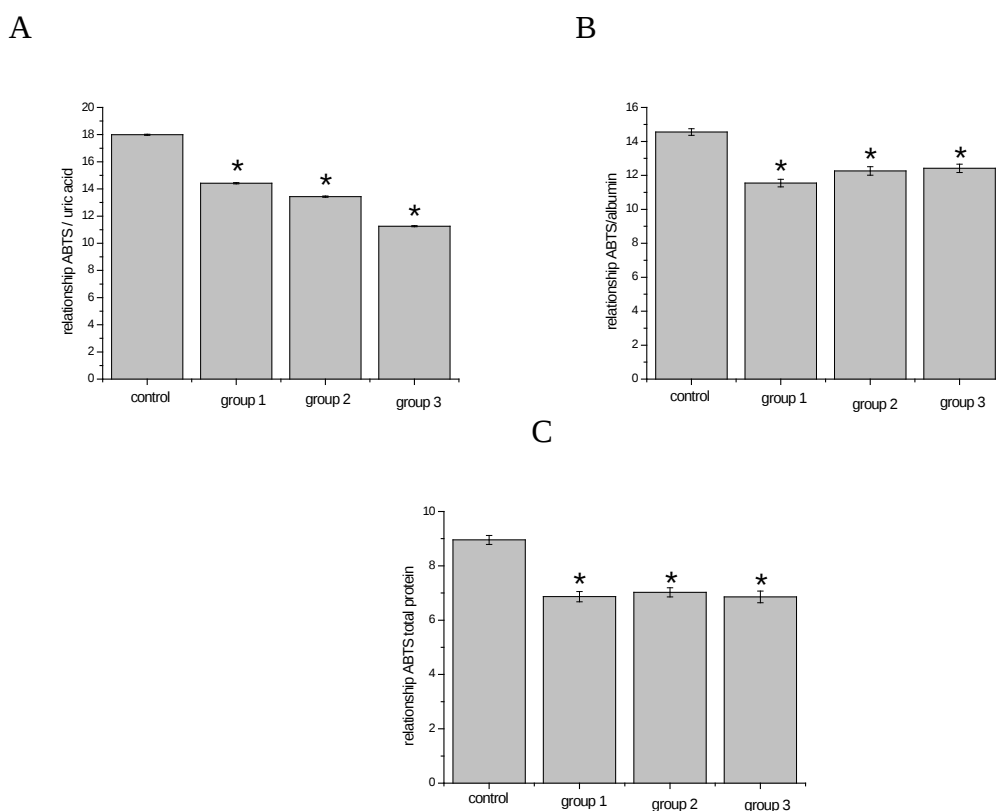


Figura 6 - Média e desvio padrão da Capacidade antioxidante total (%) corrigida para os níveis de Ácido úrico - A; Albumina – B; Proteínas Totais – C para grupos controle (não gestante), grupo1 (gestantes primeiro trimestre), grupo 2 (gestantes segundo trimestre) e grupo 3 (gestantes terceiro trimestre).

* Diferença estatística para o controle.

7 CONCLUSÕES

Em nosso estudo houve elevação significativa nos níveis de PCR ultrasensível nas gestantes em relação ao controle. Diferentes estudos clínicos demonstram que a PCR está associada ao risco de mortalidade em curto e longo prazo, em pacientes com doença isquêmica cardíaca aguda e crônica, e também naqueles com risco de desenvolver aterosclerose (MORESCO e SILVA, 2011). Tais alterações observadas nas gestantes deste estudo, apesar de parecerem fisiológicas para os grupos avaliados, podem indicar a necessidade da inclusão deste parâmetro nas avaliações laboratoriais destas mulheres.

A mieloperoxidase apesar de encontrar-se elevada ($>340\text{ng/mL}$) em uma gestante do terceiro trimestre (542 ng/ml), em relação ao controle, os grupos de gestantes não foram diferentes estatisticamente para avaliar risco cardiovascular, ou seja, a MPO na gestação não seria parâmetro para avaliação cardiovascular.

Para o número de leucócitos houve diferença significativa entre os grupos de gestantes e o controle, principalmente um aumento no grupo 3, o que pode ser devido ao fato de o organismo da gestante estar acomodando o feto, tendo uma leucocitose normal da gestação (SOUZA et al, 2002).

Em relação à CAT, consideramos que a capacidade antioxidante mensurada, representa a inibição de radicais livres por todos os antioxidantes em uma amostra e no presente trabalho, foram obtidos valores maiores dessa porcentagem no grupo controle (não grávidas) e valores menores da capacidade nos grupos das gestantes.

9 REFERÊNCIAS

ABU-SAAD, K.; FRASER, D. Maternal Nutrition and Birth Outcomes. **Epidemiol Ver**, v. 32, p. 5–25, 2010.

ÁCIDO ÚRICO. Farmacêutico responsável: Jorge A. Janoni. São Gonçalo, RJ: Kovalent do Brasil LTDA, 2010. Instruções de uso de reagentes para determinação quantitativa de ácido úrico em soro, plasma ou urina.

AGP – ALFA 1-GLICOPROTEÍNA ÁCIDA MONO. Farmacêutico responsável: Jorge A. Janoni. São Gonçalo, RJ: Kovalent do Brasil LTDA, 2010. Instruções de uso de reagentes para determinação quantitativa de alfa 1-glicoproteína ácida em soro ou plasma.

ALBUMINA. Farmacêutico responsável: Patrícia C. C. Vilela. Itabira, MG: In Vitro Diagnóstica LTDA, 2010. Instruções de uso de reagentes para determinação quantitativa de albumina em soro e plasma humano.

ARNHOLD, J.; FLEMMIG, J. Human myeloperoxidase in innate and acquired immunity. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 500, p. 92–106, 2010.

BAKKER, R.; STEEGERS, E. A. P.; HOFMAN, A.; JADDOE, V. W. V. Blood Pressure in Different Gestational Trimesters, Fetal Growth, and the Risk of Adverse Birth Outcomes. **American Journal Epidemiology**, v. 174, p. 797-806, 2011.

BALDUS, S.; HEESCHEN, C.; MEINERTZ, C. et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. **Circulation**, v. 108 (12), p. 1440-1445, 2003.

BARAKA-VIDOT, J.; GUERIN-DUBOURG, A.; DUBOIS, F.; PAYET, B.; BOURDON, E.; RONDEAU, P. New insights into deleterious impacts of in vivo glycation on albumin antioxidant activities. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1830, p. 3532–3541, 2013.

BITTNER, V.; JOHNSON, D.; ZINEH, I.; ROGERS, W. J.; VIDO, D.; MARROQUIN, O. C.; BAIREY-MERZ, N.; SOPKO, G. The triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol ratio predicts all-cause mortality in women with suspected myocardial ischemia: A Report From the Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). **American Heart Journal**, v. 157, p. 548-55, 2009.

BORATO, D. C. K.; PARABOCZ, G. C.; RIBAS, S. R. W.; KALVA-FILHO, C. A.; BORBA, L. M.; ITO, C. A. S.; BAIL, L.; SANTOS, F. A.; VELLOSA, J. C. R. Changes of metabolic and inflammatory markers in HIV infection: glucose, lipids, serum Hs-CRP and myeloperoxidase. **Metabolism**, v. 61, p. 1353-1360, 2012.

BRASIL, A. R.; NORTON, R. C.; ROSSETTI, M. B.; LEÃO, E.; MENDES, R. P. C-reactive protein as an indicator of low intensity inflammation in children and adolescents with and without obesity. **Jornal de Pediatria**, v. 83, nº 5, p. 477-480, 2007.

COLESTEROL CHOD-PAP. Farmacêutico responsável: Jorge A. Janoni. São Gonçalo, RJ: Kovalent do Brasil LTDA, 2010. Instruções de uso de reagentes para determinação quantitativa de colesterol total em soro ou plasma.

DOBIASOVA, M.; FROHLICH, J. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apoB-lipoprotein-depleted plasma (FER_{HDL}). **Clinical Biochemistry**, v. 34, p. 583–588, 2001.

DOBRIAN, A.; MORA, R.; SIMIONESCU, M.; SIMIONESCU, N. In vitro formation of oxidatively-modified and reassembled human low-density lipoproteins: antioxidant effect of albumin. **Biochimica et Biophysics Acta**, v. 1169, p. 12-24, 1993.

ESPORCATTE, R.; et al. Valor preditivo da mieloperoxidase na identificação de pacientes de alto risco admitidos por dor torácica aguda. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 89, p. 377-384, 2007.

FAURE, P.; TRONCY, L.; LECOMTE, M.; WIERNSPERGER, N.; LAGARDE, M.; RUGGIERO, D.; HALIMI, S. Albumin antioxidant capacity is modified by methylglyoxal. **Diabetes Mediab**, v. 31, p. 169-177, 2005.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVI, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low density lipoproteins cholesterol in plasma without use of the ultracentrifuge. **Clin. Chem.**, v. 18, p. 499-502, 1972.

GANDLEY, R. E.; et al. Increased Myeloperoxidase in the Placenta and Circulation of Women With preeclampsia. **Hypertension Journal American Heart Association**, v. 52, p. 387-393, 2008.

GIACOMINI, M. M.; HAHN, S.; SIQUEIRA, L. O. Análise de correlação do perfil lipídico e dano oxidativo em pacientes diabéticos. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v. 34 (2), p. 251-255, 2013.

GLICOSE GOD-PAP. Farmacêutico responsável: Jorge A. Janoni. São Gonçalo, RJ: Kovalent do Brasil LTDA, 2010. Instruções de uso de reagentes para determinação quantitativa de glicose em soro ou plasma.

HDL-C IMUNO. Farmacêutico responsável: Jorge A. Janoni. São Gonçalo, RJ: Kovalent do Brasil LTDA, 2010. Instruções de uso de reagentes para determinação quantitativa de lipoproteína de alta densidade em soro ou plasma.

HEMOGLOBINA GLICADA HbA1C. Disponível em: <http://www.labclin-itajuba.com.br/informativos/_diabetes.pdf> Acesso em: 21 jun. 2011.

HESLOP, C. L.; FROHLICH, J. J.; HILL, J. S. Myeloperoxidase and C-Reactive Protein Have Combined Utility for Long-Term Prediction of Cardiovascular Mortality After Coronary Angiography. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 55, p. 1102-1109, 2010.

HILL, C. C.; PICKINPAUGH, J. Physiologic Changes in Pregnancy. **Surg Clin N Am**, v. 88, p. 391-401, 2008.

HUNG, T. H.; CHEN, S. F.; LO, L. M.; LI, M. J.; YEH, Y. L.; HSIEH, T. T. Myeloperoxidase in the plasma and placenta of normal pregnant women and women with pregnancies complicated by preeclampsia and intrauterine growth restriction. **Placenta**, v. 33, p. 294-303, 2012.

IBARGÜEN, J. G. Proteína C-reactiva como predictor de Corioamnionitis histológica en rotura prematura de membranas pretérmino: Instituto Nacional Materno Perinatal febrero mayo 2009. Lima – Peru, 2009.

KANAKIS, C. D.; TARANTILIS, P. A.; POLISSIOU, M. G.; DIAMANTOGLU, S.; TAJMIR-RIahi, H. A. Antioxidant flavonoids bind human serum albumin. **Journal of Molecular Structure**, v. 798, p. 69–74, 2006.

KUBALA, L.; LU, G.; BALDUS, S.; BERGLUND, L.; EISERICH, J. P. Plasma levels of myeloperoxidase are not elevated in patients with stable coronary artery disease. **Clinica Chimica Acta**, v. 394, p. 59-62, 2008.

LAU, D.; BALDUS, S. Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 111, p. 16-26, 2006.

LAUGHON, S. K.; CATOV, J.; ROBERTS, J. M. Uric acid concentrations are associated with insulin resistance and birthweight in normotensive pregnant women. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 201, p. 582-586, 2009.

LAUGHON, S. K.; CATOV, J.; PROVINS, T.; et al. Elevated first-trimester uric acid concentrations are associated with the development of gestational diabetes. **Am J Obstet Gynecol**, v. 201, p. 402.e1-5, 2009.

LEWIS, S. M.; DACIE, J. V.; BAIN, B. J. Dacie and Lewis. **Practical haematology**. 10^a ed. Londres: Churchill Livingstone, 2006. 722 p.

LIMA, T. M. G.; RIBEIRO, R. L.; LAVINAS, F. C.; PADILHA, P. C. Uso de antioxidantes em gestantes adolescentes com síndrome hipertensiva específica da gestação. **Saúde e Ambiente**, v. 3, p. 33-38, 2010.

LIN, G. M.; LI, Y. H.; ZHENG, N. C.; LAI, C. P.; LIN, C. L.; WANG, J. H.; JAITEH, L. E. S.; HAN, C. L. Serum uric acid as an independent predictor of mortality in high-risk patients with obstructive coronary artery disease. A prospective observational cohort study from the ET-CHD registry, 1997–2003. **Journal of Cardiology**, v. 61, p. 122–127, 2013.

LOBBES, M. B. I. et al. Leukocyte Counts, Myeloperoxidase, and Pregnancy-Associated Plasma Protein A as Biomarkers for Cardiovascular Disease: Towards a Multi-Biomarker Approach. **International Journal of Vascular Medicine**, p. 1-9, 2010.

LORIA, V.; DATO, I.; GRAZIANI, F.; BIASUCCI, L. M. Myeloperoxidase: A New Biomarker of Inflammation in Ischemic Heart Disease and Acute Coronary Syndromes. **Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation**, p.1-4, 2008.

LURIE, S.; RAHAMIM, E.; PIPER, I.; GOLAN, A.; SADAN, O. Total and differential leukocyte counts percentiles in normal pregnancy. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 136, p. 16–19, 2008.

MANKUTA, D.; ELAMI-SUZIN, M.; ELHAYANI, A.; VINKER, S. Lipid profile in consecutive pregnancies. **Lipids in Health and Disease**, v. 58, p. 1-4, 2010.

MARTIN, U.; DAVIES, C.; HAYAVI, S.; HARTLAND, A.; DUNNE, F. Is normal pregnancy atherogenic? **Clinical Science**, v. 96, p. 421-425, 1999.

NDREPEPA, G.; BRAUN, S.; KING, L.; HADAMITZKY, M.; HAASE, H. U.; BIRKMEIER, K. A.; SCHÖMIG, A.; KASTRATI, A. Association of uric acid with mortality in patients with stable coronary artery disease. **Metabolism**, v. 61, p. 1780-1786, 2012.

NELSON, S. M.; MATTHEWS, P.; POSTON, L. Maternal metabolism and obesity: modifiable determinants of pregnancy outcome. **Human Reproduction Update**, v. 16, p. 255-275, 2010.

OIKONEN, M.; WENDELIN-SAARENHOVI, M.; PEKKA LYYTIKÄINEN, L.; SIITONEN, N.; MARIE LOO, B.; JULA, A.; SEPPÄLÄ, I.; SAARIKOSKI, L.; LEHTIMÄKI, T.; HUTRI-KÄHÖNEN, N.; JUONALA, M.; KÄHÖNEN, M.; HUUPPONEN, R.; VIKARI, J. S. A.; RAITAKARI, O. T. Associations between serum uric acid and markers of subclinical atherosclerosis in young adults. The cardiovascular risk in Young Finns study. **Atherosclerosis**, v. 223, p. 497-503, 2012.

OLIVEIRA, L. G.; KARUMANCHI, A.; SASS, N. Pré-eclâmpsia: estresse oxidativo, inflamação e disfunção endotelial. **Revista Brasileira Ginecologia Obstetrícia**, v. 32(12), p. 609-616, 2010.

PASCOAL, I. F. Hipertensão e gravidez. **Revista Brasileira Hipertensão**, v. 9, p. 256-261, 2002.

PICCIRILLO, L. J.; GONÇALVES, M. F. R.; CLEMENTE, E. L. S.; GOMES, M. B. Marcadores de Inflamação em Pacientes Com Diabetes Mellitus Tipo 1. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 48, p. 253-260, 2004.

PCR LATEX. Farmacêutico responsável: Fabricio G. de Brito. Contagem, MG. CEPA, Fabricado por MBiolog Diangósticos Ltda, 2011. Instruções de uso para a determinação semi-quantitativa de PCR látex em soro fresco.

PCR ULTRASSENSÍVEL. Biomédica responsável: Ligia Monaro da Silva. Guarulhos, SP. DiaSys Diagnostic Systems, Importado e Distribuído por BioSys LTDA, 2008/9. Instruções de uso para determinação quantitativa de PCR de alta sensibilidade em soro fresco.

PROTEINA TOTAL. Farmacêutica responsável: Patrícia C. C. Vilela. Itabira, MG. In Vitro Diagnostica LTDA, 2010. Instruções de uso de reagentes para determinação de proteínas totais em soro e outros líquidos biológicos.

RE, R.; et al. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231–37, 1999.

REIS, J. S.; VELOSO, C. A.; MATTOS, R. T.; PURISH, S.; NOGUEIRA-MACHADO, J. A. Estresse Oxidativo: Revisão da Sinalização Metabólica no Diabetes Tipo 1. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 52, p. 1096-1105, 2008.

REZENDE, J.; COSLOVSKY, S. Repercussões da gestação sobre o organismo – modificações sistêmicas. In: **Obstetrícia – Jorge de Rezende**. 9º Edição – Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro. 2001. p. 134.

ROCHA, F. D.; TEIXEIRA, V. L.; PEREIRA, R. C.; KAPLAN, M. A. C. Diabetes mellitus e estresse oxidativo: produtos naturais como alvo de novos modelos terapêuticos. **Rev. Bras. Farm.**, v. 87, p. 49-54, 2006.

ROCHE, M.; RONDEAU, P.; SINGH, N. R.; TARNUS, E.; BOURDON, E. The antioxidant properties of serum albumin. **FEBS Letters**, v. 582, p. 1783–1787, 2008.

RODRÍGUEZ, L. M.; RAMÍREZ, V. E. G. Proteína C reactiva y marcadores de estrés oxidativo como predictores de la corioamnionitis histológica y el parto pretérmino. **Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón"**. La Habana, Cuba, 2013.

ROMAN, R. M.; WENDLAND, A. E.; POLANCZYK, C. A. Mieloperoxidase e doença arterial coronariana: da pesquisa à prática clínica. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 91, p. 12-19, 2008.

SAITO, M.; ISHIMITSU, T.; MINAMI, J.; ONO, H.; OHRUI, M.; MATSUOKA, H. Relations of plasma high-sensitivity C-reactive protein to traditional cardiovascular risk factors. **Atherosclerosis**, v. 167 (1), p. 73-9, 2003.

SEABRA G., PADILHA P.C., QUEIROZ J.A., SAUNDERS C. Sobrepeso e obesidade pré-gestacionais: prevalência e desfechos associados à gestação. **Rev Bras Ginecol Obstet**. 2011; 33(11):348-53

SCOPEL D., RAMOS L. R.; VICTORINO M. F., CARARO P. G., LAVADO M. M. Marcadores clínicos e laboratoriais para doença hipertensiva específica da gravidez. **Arq. Catarin. Med**. 2012; 41(2): 15-19.

SILVA, S. H.; MORESCO, R. N. Biomarcadores cardíacos na avaliação da síndrome coronariana aguda. **Scientia Médica**, v. 21, p. 132-142, 2011.

SOUZA, A. I.; FILHO, B. M.; FERREIRA, L. O. C. Alterações hematológicas e gravidez. **Revista Brasileira de Hematologia Hemoter**, v. 24, p. 29-36, 2002.

SOUZA, B. V., AITA, C. A. M.; SILVA, J. C.; BAGENSTOSS, R. Marcadores clínicos e bioquímicos de gravidade do diabetes mellitus gestacional. **FEMINA**, v. 40(2), p. 117-121, 2012.

STANKOVIC, S.; MAJKIC-SINGH, N. Myeloperoxidase: new roles for an old molecule. **J Med Biochem**, v. 30, p. 230–236, 2011.

SUGULLE, M.; HERSE, F.; SEILER, M.; DECHEND, R.; STAFF, A. C. Cardiovascular risk markers in pregnancies complicated by diabetes mellitus or preeclampsia. **Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health**, v. 2, p. 403-410, 2012.

TRIGLICERÍDEOS GPO-PAP. Farmacêutico responsável: Jorge A. Janoni. São Gonçalo, RJ: Kovalent do Brasil LTDA, 2010. Instruções de uso de reagentes para determinação quantitativa de triglicerídeos em soro ou plasma.

TSIMIKAS, S.; WILLERSON, J. T.; RIDKER, P. M. C-reactive protein and other emerging blood biomarkers to optimize risk stratification of vulnerable patients. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 47, n^o 8, p. 19-31, 2006.

TULADHAR, E. T.; RAO, A. Plasma protein oxidation and total antioxidant power in pré-menstrual Syndrome. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p. 237-240, 2010.

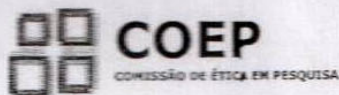
VELLOSA, J. C. R.; PARABOCZ, G. C.; MANENTE, F. A.; RIBAS, J. T.; LIMA, L. W. Alterações metabólicas e inflamatórias em condições de estresse oxidativo. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, 2013;34(3):305-312.

VOZAROVA, B.; et al. High white blood cell count is associated with a worsening of insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. **Diabetes**. v. 51, p. 455–61, 2002.

WANGA, Y.; YANGA, M.; LEEA, S. G.; DAVISA, C. G.; KENNYB, A.; KOOA, S. I.; CHUNA, O. K. Plasma total antioxidant capacity is associated with dietary intake and plasma level of antioxidants in postmenopausal women. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, p. 1725–1731, 2012.

ZOPPINI, G.; NEGRI, C. B.; STOICO, V.; CASATI, S.; PICHIRI, I.; BONORA, E. Triglyceride–high-density lipoprotein cholesterol is associated with microvascular complications in type 2 diabetes mellitus. **Metabolism**, v. 61 (1), p. 1-8, 2011.

ANEXO A – Parecer COEP UEPG



PARECER Nº 141/2011
Protocolo: 18501/11

No dia 08 de Dezembro de 2011, a Comissão de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa intitulado "Determinação dos níveis séricos da enzima mieloperoxidase (MPO;E.C.1.11.1.7) em grávidas" de responsabilidade do pesquisador José Carlos Rebuglio Velloso.

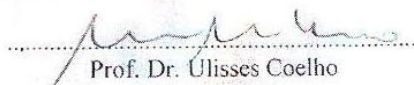
Conforme Resolução CNS 196/96, solicitamos que sejam apresentados a esta Comissão, relatórios sobre andamento da pesquisa, conforme modelo (<http://www.uepg.br/coep/>).

Data para entrega do relatório Parcial: 03 de Março de 2013.

Data para entrega do relatório Final: 03 de Março de 2014.

Ponta Grossa, 09 de Dezembro de 2011.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
 COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP


 Prof. Dr. Ulisses Coelho
 Coordenador