



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

RAPHAELA COSTA FERREIRA

**BIOMARCADORES DE DESBALANÇO REDOX E INFLAMAÇÃO EM
PLACENTAS DE GESTAÇÕES COM PRÉ-ECLÂMPسيا E SUA RELAÇÃO COM
RESULTADOS PERINATAIS**

**Maceió-AL
2020**

RAPHAELA COSTA FERREIRA

**BIOMARCADORES DE DESBALANÇO REDOX E INFLAMAÇÃO EM
PLACENTAS DE GESTAÇÕES COM PRÉ-ECLÂMPsia E SUA RELAÇÃO COM
RESULTADOS PERINATAIS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção de título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Marília Oliveira Fonseca Goulart
Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Alane Cabral Menezes de Oliveira

Maceió-AL

2020

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 - 1767

F383b Ferreira, Raphaela Costa.

Biomarcadores de desequilíbrio redox e inflamação em placentas de gestações com pré-eclâmpsia e sua relação com resultados perinatais / Raphaela Costa Ferreira. – 2020.

215 f. : il.

Orientadora: Marília Oliveira Fonseca Goulart.

Co-orientadora: Alana Cabral Menezes de Oliveira.

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Maceió, 2020.

Bibliografia: f. 172-200.

Apêndices: f. 201-215.

1. Estresse oxidativo. 2. Antioxidantes. 3. Glutathione reduzida. 4. Assistência perinatal. 5. Gravidez. I. Título.

CDU: 618.1



Universidade Federal de Alagoas
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

ICBS - UFAL – *Campus* A. C. Simões
Av. Lourival Melo Mota, S/N
Cidade Universitária – Maceió-AL
CEP: 57072-900
E-mail: ppgcs9@gmail.com
Fone: 82 3214 1850

Folha de Aprovação

Raphaella Costa Ferreira

Biomarcadores de desbalanço redox e inflamação em placentas de gestações com pré-eclâmpsia e sua relação com resultados perinatais

Tese submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 30 de Junho de 2020.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Nassib Bezerra Bueno – (UFAL)

Prof. Dr. Alexandre Urban Borbely - (UFAL)

Prof.^ª Dr.^ª Carolina Santos Mello – (UFBA)

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer a Deus, mas um agradecimento especial que vai muito além dessa conquista. Agradeço a Ele por ter ao meu lado pessoas muito importantes, as quais me deram o suporte e o incentivo necessários para que eu chegasse até aqui.

Agradeço à minha família, aos meus pais, Marcia e Ricardo, minha irmã Rayanne, minha avó Jacira e meu avô José Carlos, pelo apoio e incentivo que recebi para a realização do doutorado. Agradeço pela minha criação, por todos os ensinamentos e valores que recebi e que sempre servirão de exemplo em todos os momentos de minha vida.

Ao meu marido Lemos, obrigada por todo seu amor, amizade e companheirismo. Seus conselhos e palavras de estímulo e carinho me encorajaram a concluir este trabalho.

A minha orientadora, Prof^a Dra Marília Goulart, meu especial agradecimento. É um exemplo de profissional, dedicada, querida, pesquisadora e inspiradora. Aprendi muito com você. Você me dá “brilho nos olhos”.

A minha co-orientadora Prof^a Dra Alane Cabral, é uma das principais incentivadoras para a realização deste trabalho e, além disso, a responsável por muitas das oportunidades que tive até hoje. Considero-a, além de co-orientadora, uma amiga que de uma forma ou de outra esteve sempre presente nos principais acontecimentos de minha vida. Agradeço por todos os teus ensinamentos no decorrer desta jornada, desde a graduação até a finalização desta etapa.

À Prof^a Dra Sandra minha mãe científica, grande inspiradora e dedico a minha carreira acadêmica a você.

A Prof^a Dra Fabiana, um exemplo de pesquisadora, agradeço a troca de experiências, conhecimento e por todo apoio, sem você essa etapa da minha vida não seria concluída, muito obrigada.

Aos professores Euzébio, Alexandre e Nassib pela atenção e ajuda no decorrer do projeto.

Aos meus colegas de doutorado pela convivência e troca de experiências.

A todos os colegas, amigos e conhecidos que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui. Um destaque para os amigos(as) Marilene (minha irmã da ciência, com você tudo ficou mais fácil), Micaelly, Samara, Amylly, Jamerson, Orlando, Glen, Gustavo, Andresa, Jadriane, Bruna e Lidia.

Aos professores do Programa de pós-graduação em Ciências da Saúde (PPGCS).

Aos laboratórios de Pesquisa em Química em Recursos Naturais (LPqRN), Laboratório de Eletroquímica e Estresse oxidativo (LEEO), Laboratório de Biologia Celular e Molecular (LBC).

Aos órgãos de fomento: CAPES, Ministério da Saúde/PPSUS, CNPq e FAPESP por toda a colaboração com as pesquisas.

Mais uma vez, o meu muito obrigada a todos que, direta ou indiretamente, colaboraram de alguma forma para a realização deste trabalho.

RESUMO

Objetivo: Comparar os marcadores de desequilíbrio redox e inflamatórios entre placentas saudáveis e com pré-eclâmpsia (PE) e avaliar a relação destes marcadores com os resultados perinatais em gestações com PE. **Métodos:** Estudo transversal realizado na maternidade de um hospital universitário de Maceió-Alagoas, Brasil, em 2017, incluindo mulheres diagnosticadas com PE e gestantes saudáveis e seus conceptos. Após a triagem, foram aplicados questionários padronizados contendo dados socioeconômicos, clínicos, obstétricos e antropométricos. Após o parto, amostras placentárias foram coletadas para quantificação de biomarcadores de desequilíbrio redox (catalase - CAT; malondialdeído - MDA; peróxido de hidrogênio - H_2O_2 ; superóxido dismutase - SOD; glutathiona reduzida - GSH; glutathiona oxidada - GSSG; e sua razão - GSH / GSSG) e inflamação (mieloperoxidase - MPO; interleucina (IL) -6; IL-8; IL-10; e fator de necrose tumoral alfa - TNF- α). Todos os biomarcadores foram avaliados via análise de regressão linear com medidas de peso, comprimento ao nascer, perímetro cefálico (PC), perímetro torácico (PT) e idade gestacional dos recém-nascidos, com ajustes de variáveis, considerando $p < 0,05$ como significativo. **Resultados:** Foram estudadas 100 gestantes com PE e 50 gestantes saudáveis. Níveis placentários mais elevados de catalase ($p = 0,018$), SOD ($p = 0,031$), razão GSH / GSSG ($p = 0,019$) e IL-6 ($p = 0,010$) e GSSG mais baixo ($p = 0,001$) foram observados em gestantes com PE do que no grupo controle. Foram identificadas associações positivas entre os níveis de GSH na placenta e peso ao nascer, PC, PT e idade gestacional ao nascimento ($p < 0,05$). **Conclusão:** As placentas derivadas de gestantes com PE apresentaram altas concentrações de antioxidantes (SOD e CAT), além da razão GSH/GSSG e, também, maior concentração de IL-6, como marcador de inflamação, o que pode ser um mecanismo de compensação contra o estresse oxidativo e um processo inflamatório. Os níveis de GSH na placenta foram os únicos biomarcadores, entre os estudados, relacionados positivamente com resultados perinatais, sugerindo que esse antioxidante endógeno desempenha um papel importante na manutenção da saúde do conceito e das mulheres com PE.

Palavras-chave: Estresse oxidativo; Antioxidante; Glutathiona reduzida; Cuidados perinatais; Gravidez.

ABSTRACT

Objective: To compare redox and inflammatory markers between normal and Pre-Eclampsia (PE)-derived placentas and to evaluate the relationship between placental redox imbalance markers and perinatal outcomes in pregnancies with PE. **Methods:** This was a cross-sectional study conducted at the maternity hospital of a university hospital in Maceio-Alagoas, Brazil, in 2017, including women diagnosed with PE and healthy pregnant women and their conceptuses. After screening, standardized questionnaires containing socioeconomic, clinical, obstetric and anthropometric data were applied. After delivery, placental samples were collected for quantification of biomarkers of redox imbalance (catalase – CAT; malondialdehyde – MDA; hydrogen peroxide – H₂O₂; superoxide dismutase – SOD; reduced glutathione – GSH; oxidized glutathione – GSSG; and their ratio – GSH/GSSG) and inflammation (myeloperoxidase – MPO; interleukin (IL)-6; IL-8; IL-10; and tumor necrosis factor-alpha – TNF- α). All biomarkers were evaluated via linear regression with adjustments of variables with measures of weight, length, head circumference (HC), chest circumference (CC) and gestational age of newborns at birth, considering $p < 0.05$ as significant. **Results:** A total of 100 pregnant women with PE and 50 healthy pregnant women were studied. Higher placental levels of catalase ($p = 0.018$), SOD ($p = 0.031$), the GSH/GSSG ratio ($p = 0.019$) and IL-6 ($p = 0.010$) and lower GSSG ($p = 0.001$) were observed in pregnant women with PE than in the control group. Positive associations between placental GSH levels and body weight, HC, CC and gestational age at birth ($p < 0.05$) were identified. **Conclusion:** PE-derived placentas had higher concentrations of antioxidants (SOD and CAT), in addition to the GSH / GSSG ratio and also a higher concentration of IL-6 as a marker of inflammation, which can be a compensation mechanism against oxidative stress and an inflammatory process. Placental GSH levels were the only biomarker, among the studied ones, related positively with beneficial perinatal outcomes, suggesting that this endogenous antioxidant plays an important role in maintaining the health of the conceptus and women with PE.

Keywords: Oxidative stress; Antioxidant; Reduced glutathione; Perinatal care; Pregnancy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fatores envolvidos na etiologia da PE e os mecanismos envolvidos na sua fisiopatologia.

Figura 2. Placenta - Face fetal e Face materna.

Figura 3. Histologia da placenta (aumento de 10x).

Figura 4. Face materna da placenta, região onde foram realizados os cortes para a coleta de amostras.

Figura 5. Fluxograma dos biomarcadores de desbalanço redox e inflamatórios analisados.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Prevalência/incidência de doenças hipertensivas gestacionais em estudos nacionais e internacionais.

Tabela 2. Espécies reativas relacionadas com a PE e suas principais funções.

Tabela 3. Perfil dos marcadores de estresse oxidativo e antioxidantes em gestantes com pré-eclâmpsia.

Tabela 4. Perfil das citocinas em gestantes com pré-eclâmpsia.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Principais fatores de risco para pré-eclâmpsia.

Quadro 2. Classificação da pré-eclâmpsia.

Quadro 3. Diferenças básicas entre a pré-eclâmpsia precoce e tardia.

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACOG	Colégio Americano de Obstetras e Ginecologistas
ANG-1	Angiopoiatina-1
ANOVA	Análise de Variância
ABS	Absorvância
AGE	Produto final da glicação avançada
AIG	Adequado para idade gestacional
AKD	Doença aguda dos rins (<i>Acute kidney disease</i>)
AR	Artrite reumatóide
ARD	Doença renal aguda (<i>Acute renal disease</i>)
ARF	Falência renal aguda (<i>Acute renal failure</i>)
ATP	Trifosfato de adenosina
BHT	Butil-hidroxitolueno
BSA	Albumina do soro bovino
CAT	Catalase
CD4	Grupamento de diferenciação 4 (<i>Cluster de diferenciação 4</i>)
CD8	Grupamento de diferenciação 8 (<i>Cluster de diferenciação 8</i>)
CKD	Doença crônica renal (<i>Chronic kidney disease</i>)
Cu/Zn SOD	Superóxido dismutase dependente de cobre e zinco SOD1- Citoplasmática; SOD3- Extracelular.
DATASUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
DTNB	Ácido 5,5'-bis-ditionitro-2-nitrobenzóico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática (<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>)
EROs	Espécies reativas de oxigênio

ERONs	Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
ESKD	Estágio avançado de doença dos rins (<i>End stage of kidney disease</i>)
FGF-2	Fator de crescimento de fibroblastos
FIK	Quinase de fígado fetal-1 (<i>Fetal liver kinase-1</i>)
GFR	Velocidade de filtração glomerular (<i>Glomerular filtration rate</i>)
GIG	Grande para idade gestacional
GPx	Glutaciona peroxidase
GR	Glutaciona redutase
GSH	Glutaciona reduzida
GSSG	Glutaciona oxidada
GSTP1	Glutaciona S transferase P
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HE	Hematoxilina-eosina
HELLP	Hemólise, enzimas hepáticas elevadas e baixa contagem de plaquetas (<i>Hemolysis, elevated liver enzymes e low platelet count</i>)
cHELLP	Síndrome completa HELLP (<i>Complete syndrome HELLP</i>)
pHELLP	Síndrome parcial HELLP (<i>Partial syndrome HELLP</i>)
GH	Hipertensão gestacional (<i>Gestational hypertension</i>)
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta eficiência (<i>High performance liquid chromatography</i>)
HSG	Síndrome hipertensiva da gestação (<i>Hipertensive syndrome of gestation</i>)
IC	Intervalo de confiança
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular 1
IG	Idade gestacional
IgA	Imunoglobulin A
IGF	Fator de crescimento semelhante à insulina
IL	Interleucina

IFN- γ	Interferon- γ
IMC	Índice de massa corporal
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
KD	Doença renal (<i>Kidney disease</i>)
LPS	Lipopolissacarídeo
LEEO	Laboratório de Eletroquímica e Estresse Oxidativo
MDA	Malondialdeído
Mn SOD	Superóxido dismutase dependente de manganês SOD2- Mitocondrial
MPO	Mieloperoxidase
MS	Ministério da Saúde
MTHFR	Metilenotetraidrofolato redutase
NAD	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato reduzida
NEM	N-etilmaleimida
NF- κ B	Nuclear fator kappa-light-chain enhancer of activated B cells - Fator nuclear potenciador da cadeia leve kappa das células ativadas B
NK	Natural killer Células
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	Odds ratio
PAD	Pressão arterial diastólica
PAI -1	Inibidor do Ativador Tissular do Plasminogênio
PAS	Pressão arterial sistólica
PBS	Tampão fosfato
PC	Perímetro cefálico
PE	Pré-eclâmpsia
PIG	Pequeno para idade gestacional
PIGF	Fator de crescimento placentário
PIH	Hipertensão induzida na gravidez (<i>Pregnancy- induced hypertension</i>)

PPSUS	Programa de Pesquisa para o Sistema Único de Saúde
PR	Peroxidase de rabanete
PRISMA	Itens de relatório preferidos para revisões sistemáticas e metanálises (<i>Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses</i>)
PT	Perímetro torácico
PUFAs	Ácidos graxos poli-insaturados
p/v	Porcentagem em massa/volume
r ²	Coefficiente de determinação
RAGEs	Receptor do produto final da glicação avançada
RCIU	Restrição de crescimento intrauterino
RF	Função renal (<i>Renal function</i>)
RIPA	Tampão de ensaio de radioimunoprecipitação (<i>Radioimmunoprecipitation assay buffer</i>)
RN	Recém-nascido
RP	Razão de prevalência
rpm	Rotações por minuto
RR	Risco relativo
R-SH	Tiol
sEndogлина	Endogлина solúvel
sFlt-1	Tirosina quinase solúvel
S-S	Ligações dissulfeto
-SH	Grupo sulfidril
SIM	Sistema de informação de Mortalidade
SM	Salário mínimo
SOD	Superóxido dismutase
SPSS	Pacote Estatístico para Ciências Sociais (<i>Statistical Package for Social Science</i>)
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TMP	1,1,3,3-Tetrametoxipropano
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
Tregs	Células T reguladoras

U	Unidade
UI	Unidade internacional
UV	Ultravioleta
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
vs	Versus
W-3	Ômega 3
X ²	Qui-quadrado
XDH	Xantina desidrogenase
XO	Xantina oxidase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1 PRÉ-ECLÂMPسيا (PE)	19
2.1.1 Definição e epidemiologia.....	19
2.1.2 Etiologia e Fatores de risco.....	21
2.1.3 Diagnóstico e Classificação da PE.....	28
2.1.4 Fisiopatologia da PE.....	32
2.1.4.1 Papel da placenta.....	32
2.1.4.2 Alterações histológicas da placenta na PE.....	34
2.1.4.3 Fisiopatologia e o papel do estresse oxidativo.....	36
2.1.5 Principais biomarcadores e enzimas antioxidantes relacionados à PE.....	42
2.1.5.1 Definição de biomarcadores.....	42
2.1.5.2 Malondialdeído (MDA).....	42
2.1.5.3 Superóxido dismutase (SOD).....	43
2.1.5.4 Catalase (CAT).....	43
2.1.5.5 Glutationa (GSH).....	44
2.1.5.6 Peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂).....	44
2.1.6 PE e o papel da inflamação.....	48
2.1.6.1 Principais citocinas envolvidas na PE.....	50
2.1.6.1.1 Interleucina 1 (IL-1).....	50
2.1.6.1.2 Interleucina 6 (IL-6).....	51
2.1.6.1.3 Interleucina 8 (IL-8).....	51
2.1.6.1.4 Fator de necrose tumoral alfa (TNF-α).....	52
2.1.6.1.5 Interferon-gama (IFN-γ).....	53
2.1.6.1.6 Interleucina 11 (IL-11).....	53
2.1.6.1.7 Interleucina 33 (IL-33).....	54
2.1.6.1.8 Interleucina 13 (IL-13).....	55
2.1.6.1.9 Interleucina 4 (IL-4).....	55
2.1.6.1.10 Interleucina 10 (IL-10).....	55
2.1.6.1.11 Mieloperoxidase (MPO).....	57
2.1.7 PE e disfunção endotelial.....	60
2.1.8 Consequências da PE.....	62
2.1.9 Tratamento da PE e perspectivas.....	63
3 HIPÓTESE.....	66
4 OBJETIVOS.....	66
4.1 OBJETIVO GERAL.....	66
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	66
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	66
5.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO.....	66
5.2 DESENHO DO ESTUDO.....	67
5.3 DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS E ECONÔMICOS.....	67
5.4 DADOS CLÍNICOS E OBSTÉTRICOS.....	68
5.5 DADOS DE ESTILO DE VIDA.....	68
5.6 AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL.....	68
5.7 COLETA DE AMOSTRAS DE PLACENTA.....	68
5.8 PREPARO DOS EXTRATOS DO TECIDO.....	69
5.9 DOSAGEM DE PROTEÍNAS TECIDUAIS.....	69
5.10 ANÁLISES DE MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO.....	69
5.10.1 Dosagem de catalase (CAT).....	70

5.10.2 Dosagem de superóxido dismutase (SOD).....	71
5.10.3 Dosagem de glutatona reduzida (GSH).....	71
5.10.4 Medidor da peroxidação lipídica: malondialdeído (MDA).....	72
5.10.5 Dosagem de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂).....	73
5.11 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE INFLAMATÓRIA.....	73
5.11.1 Mieloperoxidase (MPO).....	73
5.11.2 Marcadores inflamatórios.....	74
5.12 DADOS DO RECÉM-NASCIDO E PÓS-PARTO.....	74
5.12.1 Peso e comprimento ao nascer.....	74
5.12.2 Perímetro cefálico e torácico.....	75
5.12.3 Idade gestacional no momento do parto.....	75
5.12.4 Índice de Apgar no 1° e 5° minutos.....	75
5.13 ANÁLISE DE DADOS.....	75
6 RESULTADOS.....	76
6.1 ARTIGO 1.....	76
6.2 ARTIGO 2.....	100
6.3 ARTIGO 3.....	136
6.4 CAPÍTULO DE LIVRO.....	175
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	211
REFERÊNCIAS.....	212
APÊNDICE.....	241

APRESENTAÇÃO

Este estudo é um recorte do projeto intitulado “Caracterização de biomarcadores inflamatórios e de desequilíbrio redox em gestantes com pré-eclâmpsia: relação com o estado nutricional e com as repercussões maternas e fetais” financiado pelo Programa de Pesquisa para o Sistema Único de Saúde (PPSUS/FAPEAL), sob processo de nº 35743614.1.0000.5013 e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) (processo de nº 35743614.1.0000.5013) e desenvolvido no Hospital Universitário Alberto Antunes localizado na cidade de Maceió-AL.

A presente tese encontra-se estruturada com as seguintes seções: Introdução, na qual uma revisão de literatura aborda as principais questões referentes a definição, epidemiologia, fatores de risco, diagnóstico, classificação da pré-eclâmpsia e o papel do estresse oxidativo, inflamação e disfunção endotelial na pré-eclâmpsia; Hipótese; Objetivos; Materiais e Métodos; Resultados; Considerações Finais; Referências e Apêndices.

A seção de resultados está apresentada na forma de artigos científicos.

O primeiro artigo foi intitulado “Biomarkers of placental redox imbalance in pregnancies with preeclampsia and consequent perinatal outcomes”. Teve como objetivo avaliar os biomarcadores de desbalanço redox (catalase (CAT), malondialdeído (MDA), superóxido dismutase (SOD), GSH (glutathiona reduzida), GSSG (glutathiona oxidada) e razão GSH/GSSG), bem como de inflamação (mieloperoxidase (MPO), interleucina (IL)-6, IL-8, IL-10 e do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α)), em placentas de gestações com pré-eclâmpsia e gestantes saudáveis e relacioná-los com os resultados perinatais. O artigo foi submetido à Revista *Archives of Biochemistry and Biophysics* (A2) e se encontra em fase de revisão por pares.

O segundo artigo intitulado Oxidative stress markers in preeclamptic placentas: a systematic review with meta-analysis foi submetido à revista *Placenta* (A1).

No terceiro artigo foi elaborada uma revisão sistemática intitulada “Pre-eclampsia is associated with later kidney chronic disease and end-stage renal disease: systematic review and meta-analysis of observational studies” foi submetida para a Revista *Hypertension Research* (A2) e se encontra em fase de revisão por pares.

Ademais, foi produzido um capítulo do livro intitulado “Pré-eclâmpsia: estresse oxidativo, inflamação e efeitos dos principais compostos antioxidantes e anti-inflamatórios” (Artmed Panamericana Editora Ltda).

As referências da tese obedecem ao formato proposto pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Já as referências dos artigos estão formatadas conforme orientação das revistas previamente definidas pelos autores.

1. INTRODUÇÃO

A pré-eclâmpsia (PE) é uma síndrome multissistêmica, caracterizada por episódio de hipertensão após a 20ª semana de gestação acompanhada de proteinúria e/ou evidência de injúria renal aguda materna, disfunção hepática, neurológica, hemólise ou trombocitopenia ou restrição de crescimento fetal (BROWN et al., 2018).

Apesar dos avanços no manejo dessa doença, a PE ainda é considerada uma das principais causas de mortalidade materna e fetal, acometendo de 3-12% das gestantes em todo mundo (BELAY; WUDAD, 2019; FOX et al., 2019; ABALOS et al., 2013;). No Brasil, no ano de 2016, a prevalência de óbito materno decorrente da PE foi de 6,9% (DATA SUS, 2016). Ressalta-se que a diminuição da mortalidade materna global permanece como uma das metas dos objetivos de Desenvolvimento do Milênio. No caso do Brasil, a meta para 2030 é reduzir a taxa de mortalidade materna global para menos de 70 mortes por 100.000 nascidos vivos (CONFEDERAÇÃO NACIONAL DE MUNICÍPIOS, 2016).

Considerando que a PE contribui para a elevada taxa de mortalidade materna, enfatiza-se a importância de se conhecer os mecanismos fisiopatológicos que estão relacionados com o desencadeamento ou a progressão da doença, tendo em vista que sua etiologia ainda não está totalmente elucidada.

Sabe-se que múltiplos fatores estão envolvidos na sua fisiopatologia, incluindo inflamação; placentação defeituosa; estresse carbonílico; inadaptação cardiovascular à gravidez; mau funcionamento genético, imunológico, hormonal, mecanismos angiogênicos; e estresse oxidativo (BURTON et al., 2019; MIRKOVIĆ et al., 2018; BOUÇAS et al., 2017; WU et al., 2015; YANG et al., 2014; SANCHEZ-ARANGUREN, 2014; GUEDES-MARTINS et al., 2013; UZAN et al., 2011). Contudo, não há evidências inequívocas, se esse último é resultante de dano celular oxidativo, causado pela doença já estabelecida, ou se antecede a sua manifestação clínica, bem como a relação deste com a inflamação e o surgimento da PE (TURPIN et al., 2015; HSIEH et al., 2012).

Sabe-se que a placenta constitui o substrato anatômico etiopatogênico principal para a doença e desempenha um papel fundamental na compreensão dos desfechos fetais adversos (SALAVATI et al., 2019; TUROWSKI et al., 2018; PTACEK et al., 2014). A placentação defeituosa é decorrente do defeito no

remodelamento da artéria espiral uterina, que induz a hipóxia no tecido placentário (TORRES-CUEVAS et al., 2017; SHAH et al., 2015). A placenta isquêmica libera citocinas e espécies reativas de oxigênio (ERO) que induzem a disfunção endotelial materna sistêmica e a resposta inflamatória excessiva. Já que a placenta é o órgão responsável pelo provimento da demanda metabólica para o adequado desenvolvimento e crescimento do feto, alterações presentes nesse órgão podem estar associadas a desfechos maternos e fetais desfavoráveis (AOUACHE et al., 2018; TORRES-CUEVAS et al., 2017; ROBERTS et al., 2012).

A literatura científica aponta que esse quadro de hipóxia/reperfusão tem gerado estresse oxidativo em gestantes com PE, caracterizado por elevação das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERONs). Por sua vez, as defesas antioxidantes enzimáticas tais como catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx), podem estar aumentadas ou diminuídas em decorrência do desbalanço redox, a depender da resposta orgânica (JUAN-REYES et al., 2020; KARACAY et al., 2010). O estresse oxidativo culmina na produção de citocinas inflamatórias, o que favorece a progressão e manutenção do dano oxidativo e inflamatório da doença (MANNAERTS et al., 2018; WILLIAMSON et al., 2017).

Sobre o processo inflamatório na PE, nota-se que há um desequilíbrio placentário na concentração de citocinas pró e anti-inflamatórias, havendo um aumento das inflamatórias, o que resulta no aumento da apoptose de sinciciotrofoblasto, retardo de crescimento intra-uterino, podendo culminar em trabalho de parto prematuro (AGGARWAL et al., 2019; RAGHUPATHY et al., 2013).

Além disso, em gestantes com PE é comum o aparecimento de resultados adversos à gestação, como restrição do crescimento intrauterino (RCIU), ruptura placentária, parto prematuro, recém-nascidos pequenos para idade gestacional (PIG), morte fetal, apgar <7 no 5º minuto, entre outras (SHEN et al., 2017; TURPIN et al., 2015; CHAIWORAPONGSA et al., 2014). Sugere-se que essas consequências estão relacionadas com processos oxidativos e inflamatórios, apesar de na literatura a associação entre elas e a presença dos desfechos ainda não estar definitivamente elucidada (POON et al., 2019).

Considerando o exposto, o objetivo do presente estudo é avaliar os marcadores de desbalanço redox e inflamação, em placentas de gestantes com PE, em comparação com placentas de gestantes normais e relacioná-los com resultados

perinatais. Considerando que a etiologia da PE ainda não está totalmente esclarecida, existe a necessidade de compreender, em nível fundamental, as alterações fisiopatológicas, de modo a trazer subsídios para nortear condutas clínicas e nutricionais visando um bom controle metabólico dessas alterações, com consequente contribuição para a redução das complicações oriundas da doença e da incidência de resultados perinatais adversos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 PRÉ-ECLÂMPسيا

2.1.1 Definição e epidemiologia

A PE é uma desordem multissistêmica, que ocorre apenas durante a gravidez e está associada a distúrbios neurológicos, alterações hematológicas, disfunção hepática e alteração renal (POON et al., 2019).

É definida por hipertensão (≥ 140 mmHg sistólica/ ≥ 90 mmHg) e/ou proteinúria (> 300 mg de proteinúria / 24 horas ou mais que uma cruz na fita urinária), após a 20ª semana de gestação. Na ausência de proteinúria, o diagnóstico pode ser feito pela presença de hipertensão, em conjunto com evidências da PE grave, como: pressão arterial sistólica acima de 160 mmHg ou diastólica acima de 110 mmHg; trombocitopenia; disfunção hepática; desenvolvimento de insuficiência renal; edema pulmonar; restrição de crescimento fetal; distúrbios cerebrais ou visuais de início recente (BROWN et al., 2018; COLÉGIO AMERICANO DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA, 2013).

Ressalta-se a importância do diagnóstico precoce e preciso da PE, pois a doença aumenta o risco de resultados adversos para a mãe e o feto. Se não for tratada, a PE pode resultar na eclâmpsia, caracterizada por episódios repetidos de convulsões, e na síndrome HELLP (“hemolysis, elevated liver enzymes e low platelet count”) que são importantes indicadores de alterações orgânicas adicionais e de mortalidade (JAMEIL et al., 2014).

Em termos epidemiológicos, os distúrbios hipertensivos constituem uma das principais causas de mortalidade materna e perinatal, sendo responsáveis por cerca de 18% das mesmas no mundo. Dentre estes, a PE e a eclâmpsia são as mais frequentemente encontradas, sendo que a PE afeta aproximadamente 2 a 8% das

mulheres grávidas (BELAY; WUDAD, 2019; FENG et al., 2016; YUNG et al 2014; WHO, 2011).

A Sociedade Internacional para o Estudo da Hipertensão na Gravidez (2018) estima que a PE seja anualmente responsável direta por 70.000 mortes maternas e por mais de 500.000 mortes infantis em todo o mundo. Na América Latina, um quarto das mortes maternas está associado às desordens hipertensivas da gestação, comparado a um décimo destas na Ásia e África (OMS, 2011).

Nesse contexto, a Tabela 1 apresenta valores de prevalências/ incidência de doenças hipertensivas gestacionais em estudos nacionais e internacionais.

Tabela 1: Prevalência/incidência de doenças hipertensivas gestacionais em estudos nacionais e internacionais.

Autor (ano)	Estudo	Prevalência/Incidência
Musa et al. (2018)	Estudo tipo coorte de gestantes atendidas na clínica pré-natal do Hospital Universitário de Jos, Nigéria.	A incidência de PE foi 8,8%.
Hoffman et al. (2017)	Com mulheres nulíparas em sete locais na África subsaariana, sul da Ásia e América Latina. Pacientes com PE grave e eclâmpsia.	2,4% das mulheres foram diagnosticadas com PE e/ ou eclâmpsia.
Wagnew et al. (2016)	Estudo retrospectivo na Etiópia, revisou os registros médicos de cinco anos (2009 a 2013).	A proporção média de cinco anos de PE/ eclâmpsia foi de 4,2%. A proporção de mulheres com PE foi de 2,2% em 2009 e aumentou para 5,58% em 2013.
Rezende et al. (2016)	Estudo transversal com gestantes atendidas na maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro, com o objetivo de avaliar a prevalência de PE, de acordo com o parto antes de 34, 37 e 42 semanas	PE foi diagnosticado em 6,64%; A prevalência de PE foi de 0,78%; 1,92% e 6,74% segundo os partos antes de 34, 37 e 42 semanas.
González et al. (2016)	Com gestantes atendidas no Hospital Regional Santa Teresa, Comayagua,	Prevalência de PE foi de 65,1%, sendo este o distúrbio hipertensivo

	Honduras.	mais frequente entre as gestantes. A prevalência de transtornos hipertensivos foi de 5,9%.
Ministério da Saúde (2019)	Dados oriundos do Sistema de informação de Mortalidade (SIM) coletados no Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS. Acessado em: 10 de dezembro de 2019 http://datasus.saude.gov.br/).	A frequência de mortes maternas por doença hipertensiva com proteinúria significativa no Brasil, em 2016, foi de 116 mortes de um total de 1670 óbitos, o que representa 6,94% dos óbitos maternos.
Oliveira e Graciliano (2015)	Com mulheres atendidas em uma maternidade pública de Maceió, capital do estado de Alagoas, Brasil.	Prevalência de síndrome hipertensiva da gravidez foi de 18,4%.
Giordano et al. (2014)	Análise secundária de um estudo multicêntrico, transversal, incluindo 27 centros de todas as regiões geográficas do Brasil.	Nas áreas mais desenvolvidas, a prevalência de eclâmpsia foi estimada em 0,2%, com índice de morte materna de 0,8%, enquanto em regiões menos favorecidas esta prevalência se eleva para 8,1%.
Abalos et al. (2013)	Revisão sistemática envolvendo 40 países com 39 milhões de mulheres.	Geral: Incidência de 4,6% para PE e 1,4% para eclâmpsia. No Brasil: Incidência de 1,5% para PE e 0,6% para eclâmpsia

2.1.2 Etiologia e Fatores de risco

A etiologia da PE permanece debatida, várias hipóteses explicam a sua causa sendo considerada uma doença multifatorial. Vários fatores de risco para a PE têm sido identificados, como: cor da pele negra, baixa escolaridade, baixa renda familiar, atividade profissional fora do domicílio, idade nos extremos da fase reprodutiva, primigestas, gestações múltiplas, dietas hipoprotéicas e hipersódicas,

grupo sanguíneo AB, obesidade, resistência à insulina, diabetes, nutrição inadequada, infecção, nefropatias, história familiar ou pessoal de PE ou eclâmpsia, patologias que desenvolvem aumento da massa trofoblástica como hidropsia fetal e mola hidatiforme e neoplasia trofoblástica (JUAN-REYES et al.,2020; PERAÇOLI et al.,2019; SHEN et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2015; REYES et al., 2012).

Ademais, o Ministério da Saúde do Brasil ressalta que a PE acomete mais as primigestas, gestação gemelar e mulheres com história pessoal e/ou familiar de PE e/ou eclâmpsia, com doença cardiovascular pré-existente, nefropatia, lúpus e diabetes, o que corresponde aos principais fatores de risco para a doença (LÓPEZ-JARAMILLO et al., 2005). As diretrizes do Instituto Nacional de Excelência em Saúde e Cuidados de 2019 classificam uma mulher com alto risco de PE se houver histórico de doença hipertensiva durante uma gravidez anterior ou uma doença materna, incluindo doença renal crônica, doenças auto-imunes e diabetes. As mulheres têm risco moderado se forem nulíparas, com idade 13-18 anos ou ≥ 40 anos, antecedentes familiares de PE, gravidez multifetal ou intervalo de gravidez superior a 10 anos.

A Figura 1 sumariza os fatores de risco envolvidos na PE e os mecanismos envolvidos na sua fisiopatologia.

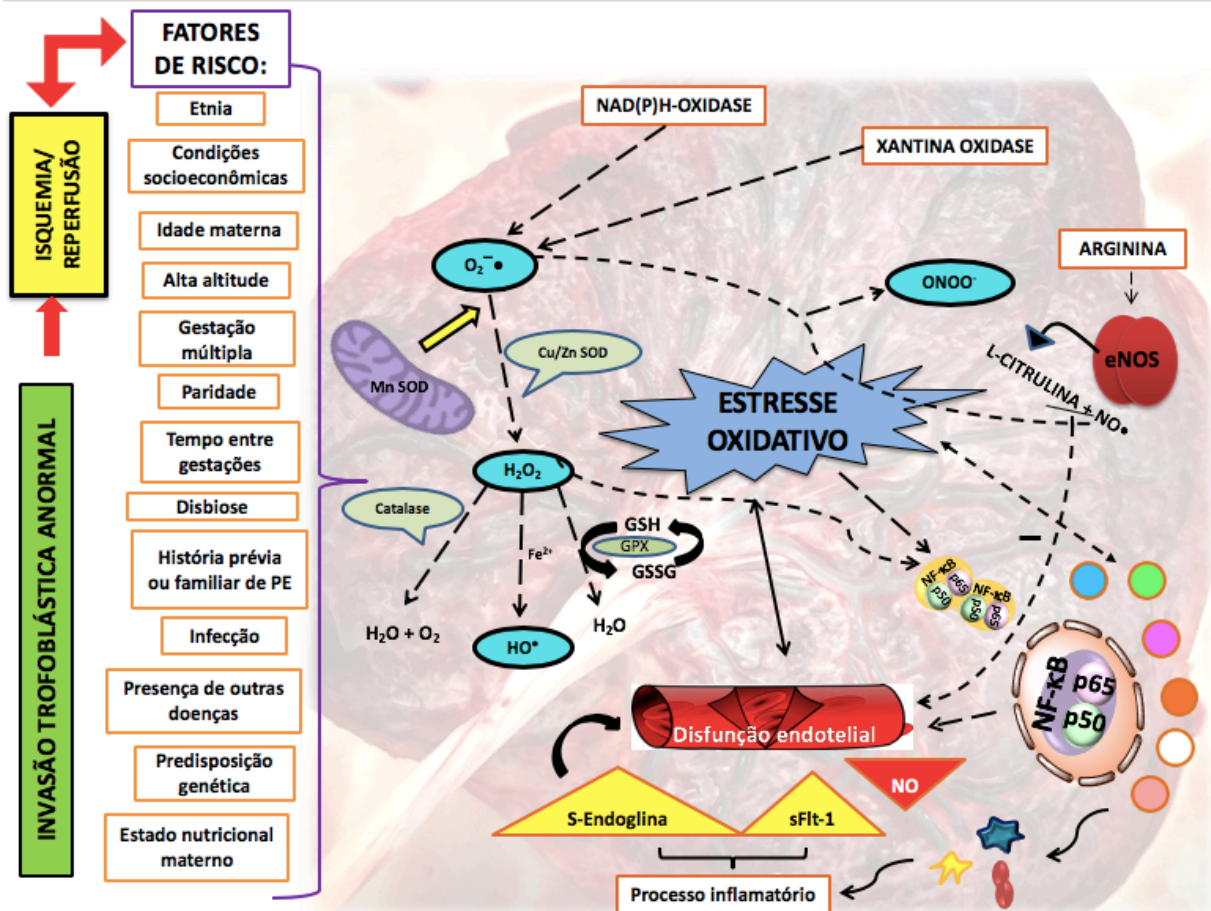







Figura 1: Fatores envolvidos na etiologia da PE e os mecanismos envolvidos na sua fisiopatologia.

Legenda: A ocorrência de uma invasão trofoblástica anormal acarreta em remodelamento inadequado das artérias espiraladas uterinas, resultando em um processo de isquemia/reperfusão placentária. Tal alteração, quando associada a fatores de risco individuais, pré-existent, podem conduzir a diversas alterações placentárias, em especial, ao aumento do estresse oxidativo. Considerando que após um período de isquemia/ reperfusão, na presença de oxigênio, diversas espécies reativas são produzidas, como os radicais superóxido e hidroxila, peróxido de hidrogênio e peroxinitrito, que por sua vez, irão demandar maior produção da defesa antioxidante enzimática, através das enzimas superóxido dismutase e catalase, bem como da não enzimática, através da ação da glutathiona. O aumento do estresse oxidativo acarreta em um processo inflamatório como também o inverso pode ocorrer, através de maior produção de citocinas pró-inflamatórias, que por sua vez, são capazes de conduzir à formação de compostos anti-angiogênicos, como a endoglicina solúvel e a tirosina quinase solúvel, resultando em disfunção endotelial vascular.

LEGENDA				
				
Células do sistema imune	Mitocôndria	Núcleo celular	Vaso sanguíneo	Citocinas pró-inflamatórias

Adaptado de: Sánchez-Araguren et al. (2014); Chiarello et al. (2018); Aouache et al. (2018)

Dentre os fatores de risco citados, alguns são descritos mais detalhadamente no Quadro 1:

Quadro 1: Principais fatores de risco para pré-eclâmpsia.

Fatores de risco	Descrição
Etnia	As mulheres negras têm um risco de PE 2x > do que mulheres brancas, além de serem mais propensas a ter hipertensão, independente da gravidez (OLIVEIRA et al. 2016; TROGSTAD et al., 2011). Uma das explicações para essa situação é que pessoas negras parecem possuir um defeito hereditário na captação celular e no transporte de cálcio e sódio, o que pode estar relacionado a um gene economizador de sódio que acarreta o influxo celular de sódio e efluxo de cálcio, favorecendo o aparecimento da hipertensão arterial (TROGSTAD et al., 2011).
Condições socioeconômicas	As gestantes com menor poder aquisitivo têm maiores chances de ter PE, isso porque tal situação pode predispor ao estresse e a um estado nutricional desfavorável (MOURA et al., 2010).
Idade Materna	A probabilidade preditiva de PE aumenta quando a idade materna é maior que 35 anos e a probabilidade aumenta ainda mais rapidamente quando a idade materna é superior a 40 anos (KHALIL et al., 2013). Os dados dos EUA sugerem que o risco de PE aumenta em 30% para cada ano adicional em mulheres acima de 34,9 anos (WALLIS et

	<p>al., 2008). O estudo de Duckitt et al. (2005) relata que idade maior que 40 anos aumenta o risco (RR: 1,96; IC 95%: 1,34–2,87), assim como a história prévia de PE (RR: 7,19; 95% IC: 5,85-8,83), obesidade pré-gestacional (RR: 2,47; IC 95%: 1,66–3,67) e mulheres que engravidam de óvulos doados, doação de embriões ou inseminação de doadores.</p>
Alta altitude	<p>O aumento da incidência de PE em altas altitudes tem sido atribuído a uma maior hipóxia placentária e a um menor diâmetro deste órgão. Os achados têm mostrado que em gestantes com PE residentes em alta altitude, os marcadores de desbalanço redox e inflamação estão aumentados. (BASHIR et al., 2018; BASHIR et al., 2015).</p>
Gestação múltipla	<p>O risco aumenta conforme o número de fetos. No estudo de Grum et al. (2017), primigesta (OR: 2,68; IC95%: 1,38-5,22); história de PE em gestação anterior (OR: 4,28; IC95%: 1,61-11,43); e gravidez múltipla (OR: 8,22; IC95%: 2,97-2,78) foram associados com a PE. De acordo com Day et al. (2005), a incidência de síndromes hipertensivas é maior nas gestações trigemelares (20%) e gemelares (12,7%) em relação às únicas (6,5%, $p < 0,001$).</p>
Paridade	<p>Em uma metanálise que objetivou avaliar os efeitos e mecanismos de primiparidade sobre o risco de PE, dos 26 estudos analisados, encontrou-se um risco de 2,42 (IC95%: 2,16-2,71) de PE em primíparas em comparação com mulheres múltiparas (LUO et al., 2007). Outro estudo afirma que as taxas de PE variaram de 3 a 7% em mulheres nulíparas e de 1 a 3% em mulheres múltiparas (HERNANDEZ-DIAZ et al., 2010).</p>
Tempo entre gestações	<p>O risco de PE aumenta com o intervalo de tempo entre as gestações. Quando o intervalo é superior a 10 anos, o risco iguala o de uma mulher nulípara; ou seja, quanto maior o intervalo entre as gestações, maior o risco de PE (MIGNINI et al., 2016; CONDE-AGUDELO et al., 2007).</p>

<p>História prévia ou familiar de PE</p>	<p>As mulheres que têm PE na primeira gravidez têm 7x o risco de PE em uma segunda gestação (HERNANDEZ-DIAZ et al., 2009; DUKLER, 2001). Lin et al (2014), relatam que as mulheres que sofreram PE, têm uma chance de 16% de PE recorrente na próxima gravidez. Este risco é aumentado para 25%, se a gravidez foi complicada por PE grave, síndrome de HELLP ou eclâmpsia. Por sua vez, mulheres com história familiar de PE também apresentam risco aumentado de desenvolver a doença. No estudo de Musa et al. (2018), a história prévia de PE (RR = 5,1, IC95%: 2,2-12,1) foi associado com a PE, em gravidez subsequente.</p>
<p>Disbiose</p>	<p>A alteração na composição da microbiota materna (disbiose) pode estar envolvida na patogênese da PE (CHEN et al., 2020; DUNN et al., 2019). A disbiose como fator causal da PE tem sido uma abordagem recente da investigação científica, uma vez que esses microorganismos e seus derivados produzem antígenos e outros fatores que podem desencadear infecções e respostas inflamatórias (AHMADIAN et al., 2020). Assim, observa-se que alterações na comunidade bacteriana da mãe na cavidade oral, intestino, vagina, colo uterino, juntamente com a microbiota da placenta e do líquido amniótico, pode estar envolvida no desenvolvimento de PE. Por outro lado, a ingestão de probióticos parece ser benéfico na diminuição da incidência de PE, pois podem melhorar a inflamação (BRANTSAETER et al., 2011).</p>
<p>Obesidade</p>	<p>A obesidade é um importante fator de predisposição para a PE. O índice de massa corporal (IMC) elevado tem sido consistentemente associado ao aumento do risco de PE em mulheres obesas, comparadas àquelas com peso normal (HOGAN et al., 2012). Os mecanismos envolvidos para explicar a relação da PE com a obesidade ainda têm sido</p>

	<p>investigados, porém tem sido evidenciado o aumento do processo inflamatório nas gestantes obesas, devido à liberação de citocinas inflamatórias pelos adipócitos, acarretando na inibição da enzima óxido nítrico sintase, o que leva à vasoconstrição por meio da diminuição da disponibilidade do óxido nítrico (NO), já que na presença de inflamação, este pode reagir com o radical superóxido para formar o peroxinitrito (GREGOR e HOTAMISLIGIL, 2011).</p>
<p>Presença de outras doenças</p>	<p>Condições pré-existentes, como diabetes insulino-dependente, obesidade, lúpus, infecção e doença renal estão associadas com um risco aumentado para o desenvolvimento de PE (CHEN et al., 2019; BARTSCH et al., 2016; ENGELAND et al., 2011; ØDEGAARD et al., 2000; SIBAI et al., 1991).</p>
<p>Predisposição genética</p>	<p>Existem vários estudos que descrevem associações entre polimorfismos genéticos e o desenvolvimento da PE (GRAY et al., 2018). Dos genes avaliados, os mais relevantes foram: polimorfismos em genes que codificam proteínas do sistema imunológico (Fator de necrose tumoral (TNF-α) e interleucina-6); Polimorfismo MTHFR (metilenotetraidrofolato redutase) - ocorre em genes que regulam a pressão arterial; polimorfismo em eNOS - ocorre em genes que geram o NO$^{\bullet}$ e regulam a função vascular; polimorfismo GSTP1 (Glutathione S transferase P) - ocorre em genes que regulam o estresse oxidativo. Adicionalmente, a literatura tem mostrado o papel dos genes maternos no desenvolvimento da PE, tais como mutações genéticas na glut298Asp da enzima óxido nítrico sintetase levando ao aumento da resistência vascular periférica e no fator V de Leiden (mutação genética humana do fator V) relacionado com o sistema de coagulação sanguínea (WILLIAMS et al., 2011), entretanto os achados quanto à etiologia genética na PE ainda permanecem inconclusivos. Na revisão de Giannakou</p>

	<p>et al. (2018), dos fatores de risco genéticos estatisticamente significantes ($p < 0,05$) para PE, apenas o polimorfismo PAI-1 4G / 5G (modelo recessivo) foi apoiado por fortes evidências de uma contribuição para a patogênese da PE). O PAI-1 é o principal inibidor dos ativadores do plasminogênio. Sendo expresso em trofoblastos intersticiais extravilosos e trofoblastos vasculares. Durante a implantação e a placentação, o PAI-1 é responsável por inibir a degradação da matriz extracelular (MEC), causando assim uma inibição da invasão de trofoblastos.</p>
Infecção	<p>As mulheres que adquirem infecção urinária durante a gravidez, mas não as que têm infecção respiratória, têm um risco aumentado de PE. As prescrições de antibióticos maternos também estão associadas a um risco aumentado (MINASSIAN et al., 2013). O estudo de Shimos et al. (2018), mostra associação da infecção com a PE. Várias infecções, como doença periodontal, infecções do trato urinário (RUSTVELD et al. 2008) e <i>Helicobacter pylori</i> são consideradas como fator de risco para PE (NOUROLLAHPOUR et al., 2019; BELLOS et al., 2018).</p>
Nutrição	<p>A nutrição adequada é de extrema importância para a prevenção da PE. Na literatura é visto que deficiências nutricionais são fatores de risco para PE. A deficiência de iodo (BUSINGE et al., 2019), folato (SINGH et al., 2015), cálcio, vitamina D, vitamina C (KLEMMENSEN et al., 2009) e fibras podem ser fatores de risco independentes da PE, estando associada à proliferação e migração defeituosa de trofoblasto (CHEN et al., 2015). O baixo consumo de fibra alimentar é associado a risco de PE (FREDERICK et al., 2005).</p>

2.1.3 Diagnóstico e Classificação da PE

De acordo com o Colégio Americano de Obstetras e Ginecologistas (ACOG), a PE é diagnosticada quando a PAS > ou igual a 140 mmHg ou PAD > ou igual a 90 mmHg e proteinúria maior ou igual a 300 mg em urina de 24 h. A proteinúria é definida pela excreção de proteínas na urina ≥ 300 mg/24 h ou uma razão de proteinúria/creatinúria $\geq 0,3$. Nos casos em que não seja possível obter uma amostra de urina de 24 h, deve considerar-se como significativa uma proteinúria ≥ 30 mg/dL (resultado 1+ em tira de urina) obtida em 2 amostras de urina colhidas com intervalo de 4-6 h. Na ausência de proteinúria, considera-se o surgimento de hipertensão associado ao surgimento de um dos seguintes itens: plaquetopenia, insuficiência renal, lesão hepática, edema pulmonar e sintomas neurológicos ou visuais (COLÉGIO AMERICANO DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA, 2013).

A Sociedade Internacional para o Estudo da Hipertensão na Gravidez (ISSHP), em 2018, traz que a proteinúria não é obrigatória para o diagnóstico de PE. O diagnóstico é feito pela presença da hipertensão após 20 semanas de gestação acompanhada de proteinúria e / ou evidência de lesão renal aguda materna, disfunção hepática, características neurológicas, hemólise ou trombocitopenia ou restrição no crescimento fetal (BROWN et al., 2018).

O fato da PE ser considerada como uma síndrome levou ao surgimento de diferentes classificações da doença, tais como: com base na gravidade (PE moderada; PE grave) e no início de sintomas (PE precoce, antes de 32 semanas; PE tardia, ≥ 32 semanas) (MAYRINK et al., 2018; VON DADELSZEN et al., 2003).

A PE pode ser classificada como moderada, onde há pouco envolvimento sistêmico, ou grave, quando ocorre dano a diversos órgãos, conforme pode ser observado no Quadro 2.

A outra forma de classificação é baseada no aparecimento das manifestações sintomatológicas definidas como: precoce (manifestações ocorrem antes da 32ª semana de gestação) ou tardia (manifestações ocorrem após a 32ª semana de gestação) (VON DADELSZEN et al., 2003), sendo esta última responsável pela maioria dos casos (cerca de 80%), e o tipo de início precoce que atinge entre 5% a 20% das acometidas pela PE.

Quadro 2: Classificação da pré-eclâmpsia.

	Pré-eclâmpsia moderada	Pré-eclâmpsia grave
Pressão Arterial Sistólica	<160 mmHg	≥160 mmHg
Pressão Arterial Diastólica	<110 mmHg	≥110 mmHg
Proteinúria	≥ 300 mg/24h	>5000 mg/24h
Contagem de Plaquetas	Normal ou ligeiramente diminuída (>100.000/ul)	<100.000/ul <50.000/ul
Creatinemia	Normal ou ligeiramente aumentando (<1,1mg/dL)	>1,2 mg/dL
Ácido úrico	Normal ou ligeiramente elevado	>6 mg/dL
Transaminases	Normal ou ligeiramente aumentado	Aumento do dobro dos valores normais
Lactato desidrogenase	Normal ou ligeiramente aumentado (<600 U/L)	>600 U/L
Dores abdominais persistentes	Não	Sim
Cefaleias e tonturas	Não	Sim
Convulsões	Não	Sim
Oligúria	Não	<500mL/24horas
Restrição no crescimento fetal	Não	Sim
Oligo-hidrâmnio	Não	Sim

Fonte: Adaptado de ACOG (2013)

No entanto, o tipo de início precoce é responsável pela maior parte das taxas de morbidade e mortalidade perinatal e complicações maternas (MYATT et al., 2015; MAYRINK et al., 2018).

A principal característica patológica da PE de início precoce é a incompleta transformação das artérias espiraladas maternas, resultando em hipoperfusão da placenta e redução do suprimento de nutrientes para o feto. Isso resulta em sinais de restrição do crescimento fetal (BURTON et al., 2019). Por outro lado, no tipo tardio, as artérias espiraladas são ligeiramente alteradas em diâmetro e não há sinais de restrição no crescimento fetal, estando mais relacionada com a predisposição à disfunção endotelial e presença de fatores de risco semelhantes aos das doenças cardiovasculares, como obesidade, dislipidemia, diabetes e hipertensão (MYATT et al., 2015; FISHER, 2015). As diferenças básicas entre esses dois tipos de PE estão descritas no Quadro 3.

Quadro 3: Diferenças básicas entre a pré-eclâmpsia precoce e tardia.

Pré-eclâmpsia de início precoce (< 32 semanas de gestação)	Pré-eclâmpsia de início tardio (≥ 32 semanas de gestação)
Doenças fetais tipicamente associadas à disfunção da placenta	Transtorno materno devido a fatores constitucionais maternos subjacentes
Redução do volume placentário	Volume placentário normal
RCIU	Crescimento fetal normal
Avaliação anormal da artéria uterina e umbilical por Doppler	Avaliação normal da artéria uterina e umbilical por Doppler
Resultados maternos e fetais adversos	Resultados maternos e neonatais favoráveis
Baixo peso ao nascer	Peso normal ao nascer

Adaptado de: Mirković Lj, et al. (2018).

Legenda: RCIU: restrição de crescimento intrauterino.

2.1.4 Fisiopatologia da PE

2.1.4.1 Papel da placenta

A placenta humana a termo é discoide, pesa cerca de 470 a 600 g, mede de 15 a 25 cm de diâmetro e possui cerca de 1,5 a 3 cm de espessura. A placenta é dividida em duas faces: a face materna derivada do endométrio, onde são encontrados de 15 a 20 cotilédones-vilos coriônicos recobertos por uma camada delgada de decídua basal e separados por septos deciduais, e a face fetal originária do saco coriônico, região basal da placenta denominada de placa coriônica e recoberta pelo âmnio (MAYO, 2018; BENIRSCHKE, 2012). Esta região apresenta artérias e veias, que permitem a entrada e saída do sangue materno, estabelecendo a circulação uteroplacentária e a inserção do cordão umbilical (Figura 2) (MAYO, 2018; DOCKERY et al.,2000).

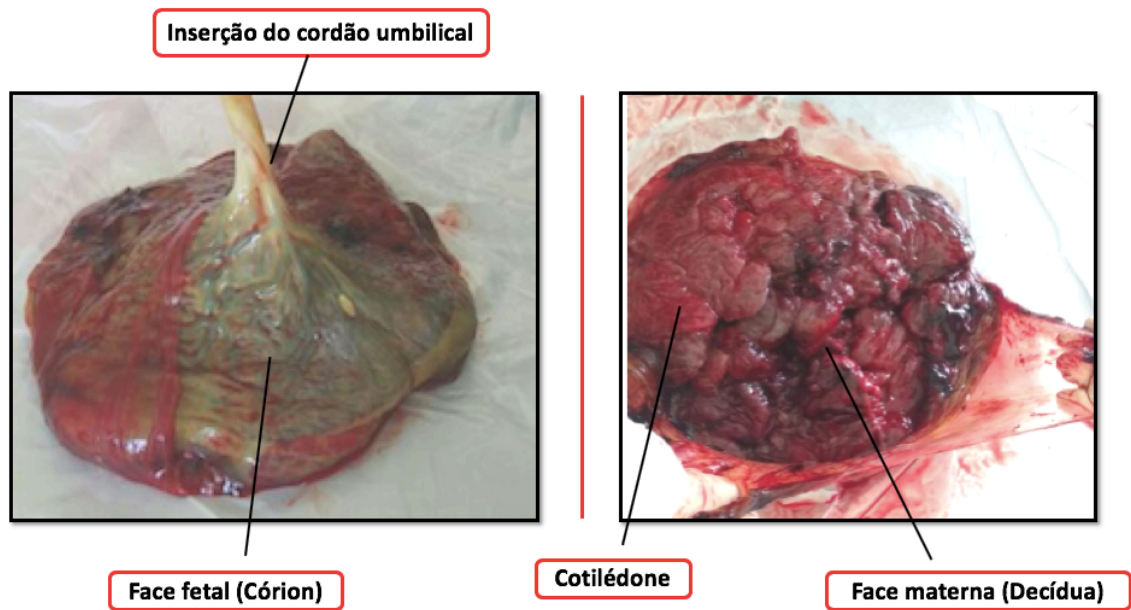


Figura 2: Placenta - Face fetal e Face materna

Fonte: Autor

A placenta é um órgão temporário formado durante a gestação e multifuncional, tendo como uma das suas principais funções, a transferência de nutrientes da mãe para o feto para o crescimento e desenvolvimento fetal, além de ser responsável pela tolerância imunológica e recebimento e produção de hormônios regulatórios, tais como progesterona e estrogênio que são essenciais para manutenção da gravidez. Atua como uma barreira para proteger o feto contra toxinas e patógenos infecciosos (WECKMAN et al 2019; ROBERTS, GREEN, SCHULZ, 2016), bem como tem mostrado papel neurocomportamental, já que a placenta libera o 5-HT - precursor da serotonina - que pode induzir efeitos autócrinos/ parácrinos, mas as interrupções nessa via de sinalização podem levar a alterações patológicas da placenta e aumentar o risco de doenças fetais, incluindo transtorno do espectro autista, assim ressalta-se a importância de uma placentação adequada (ROSENFELD, 2019; SATO, 2013).

A placentação ocorre entre as 6^a e 18^a semanas da gravidez, quando as artérias espiraladas são transformadas em grandes estruturas, sendo caracterizadas por infiltração difusa do endométrio e do terço interno do miométrio por células trofoblásticas extravilosas (um dos principais tipos de células da placenta), as quais romperam os vasos endometriais. A placenta é classificada ainda como sendo do

tipo hemocorial, com o trofoblasto fetal sendo banhado diretamente pelo sangue da mãe (MAYO, 2018; FISHER et al., 2015).

As células trofoblásticas são as primeiras que se diferenciam do óvulo fertilizado e, finalmente, permitem a implantação do embrião no útero. Essas células formam a membrana externa da placenta e são responsáveis pela troca de nutrientes e oxigênio entre mãe e feto. A invasão trofoblástica possibilita a fixação da placenta ao útero e a transformação de artérias espiraladas de baixa resistência, favorecendo assim o seu remodelamento (BURTON et al., 2009).

Após esse processo de invasão pelas células trofoblásticas, o desenvolvimento vascular fetoplacentário e o remodelamento vascular materno são eventos-chave para a formação da placenta hemocorial em humanos. Os trofoblastos placentários fazem contato direto com o sangue materno para mediar a troca eficiente de gases e nutrientes entre a mãe e o feto (FITZGERALD et al., 2010).

Indiscutivelmente, o episódio mais importante no começo da placentação normal é o estabelecimento da circulação materna efetiva, processo que está relacionado à conversão fisiológica das estreitas e tortuosas artérias espiraladas maternas em um ducto sinoidal e flácido, com diminuída resistência, que permite o suprimento sanguíneo necessário ao desenvolvimento da placenta (MOSER et al., 2018; FISHER et al., 2015).

Durante a gestação normal, a invasão começa no primeiro trimestre e prossegue até o segundo semestre (por volta da 15 semana), especificamente na 10ª semana, as células trofoblásticas invadem as arteríolas espiraladas, substituindo as células endoteliais, mimetizando um novo endotélio e destruindo a musculatura da camada média dessas artérias. Essas modificações fazem com que a artéria aumente seu calibre, obtenha baixa resistência e alta capacidade uteroplacentária, permitindo um maior aporte de sangue para a placenta. Na PE, essa invasão não vai ocorrer de maneira completa, fazendo com que as artérias tenham um calibre reduzido, o que, por sua vez, resulta em vasoconstrição, e conseqüentemente baixa perfusão sanguínea da placenta (FISHER et al., 2015; BROSENS et al., 2011).

Na PE, as células trofoblásticas têm suas propriedades invasivas alteradas: não produzem gelatinase B, mantêm a expressão de $\alpha 5\beta 1$ e não expressam a integrina $\alpha 1\beta 1$. A literatura atual aponta duas hipóteses principais para a deficiente implantação trofoblástica: má adaptação imunológica e incompatibilidade genética.

Essa invasão trofoblástica prejudicada no início da gravidez estimula o estresse oxidativo e uma resposta inflamatória sistêmica sustentada, além de desfechos perinatais desfavoráveis como retardo do crescimento intrauterino e mortalidade fetal (FISHER, 2015).

Dessa forma, já que a placenta é o órgão responsável pelo provimento da demanda metabólica para o adequado desenvolvimento e crescimento fetal (MALTEPE et al., 2010), torna-se importante a avaliação de marcadores do desenvolvimento placentário, a fim de se investigar alterações morfológicas e histológicas presentes nesse órgão que possam estar associadas ao comprometimento do desenvolvimento fetal.

2.1.4.2 Alterações histológicas da placenta na PE

O exame histológico das placentas de gestantes com PE revela alterações predominantes e características, como aumento de nós sinciciais, infarto, e vilosidades pequenas e aglomeradas com pouco espaço intervilo, caracterizando a hipoplasia de vilos distais (Figura 3), além do aumento de depósito de fibrina (FALCO et al., 2017; ORABONA et al., 2016; GUIMARÃES et al., 2009).

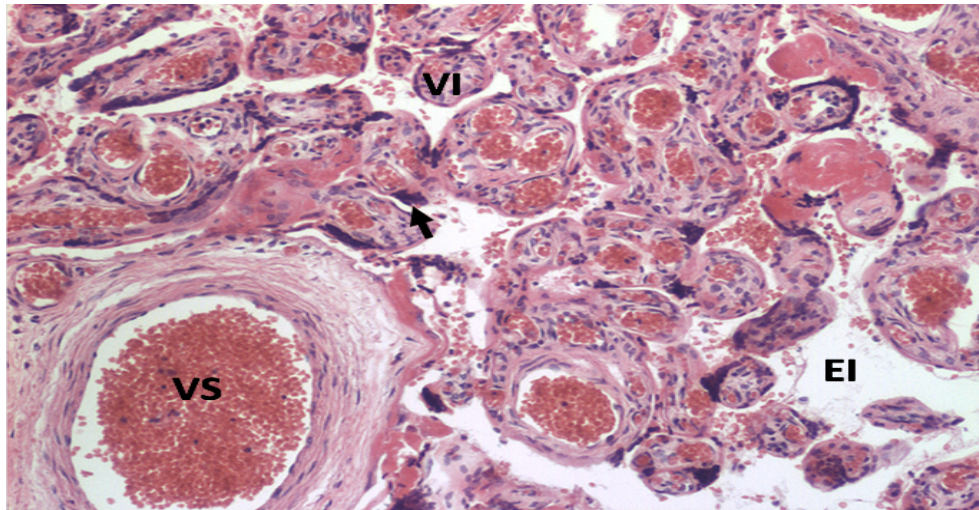


Figura 3: Histologia da placenta (aumento de 10x).

Legenda: VI: vilosidades; VS: vaso sanguíneo infartado; EI: espaço intervilo; seta: nó sincicial.

Fonte: Foto cedida pelo professor Alexandre Borbely

Os nós sinciciais são conceituados como aglomerados de cinco ou mais núcleos com projeções periféricas dos vilos que não estavam em contato com outro

vilo adjacente (SANKAR et al., 2012). O aumento do número de nós sinciciais está associado à necrose das vilosidades, depósito de fibrina e focos de calcificação, que fazem parte do quadro de envelhecimento fisiológico da placenta, incrementado por situações como em síndrome hipertensiva. De acordo com Corrêa et al. (2008), o aumento de nós sinciciais é observado em placentas a termo e em gestações prematuras, mostrando correlação positiva com a gravidade da hipertensão arterial. Heazell et al (2007) observaram um aumento do número de nós sinciciais nas placentas de gestações complicadas por PE *in vitro* quando expostas à hipóxia e às EROs, apoiando seu envolvimento nessas condições patogênicas.

O infarto viloso foi definido como a região isquêmica das vilosidades, envolvida por sangue coagulado, resultado de um baixo fluxo sanguíneo que chega à placenta (SOUZA et al., 2011), sendo comum em placentas de gestantes portadoras de PE grave (MATEUS et al., 2008). O depósito de fibrina periviloso é identificado pelo acúmulo de material fibrinóide ao redor das vilosidades, sendo considerado um produto da coagulação sanguínea materna e sua formação ocorre pela degeneração sinciciotrofoblástica devido à hipóxia resultante do mau suprimento sanguíneo (AKHLAQ et al.2012). Ekinci et al. (2018) e Sikkema et al. (2002) observaram aumento do depósito de fibrina em gestantes portadoras de PE. A hipoplasia ocorre quando os vilos se apresentam pequenos para a idade gestacional. Akhlaq et al. (2012) encontraram maior percentagem de placentas com hipoplasia dos vilos distais nas gestantes com PE precoce, quando comparadas às normotensas. Tais características refletem as alterações fisiopatológicas da doença.

2.1.4.3 Fisiopatologia e o papel do estresse oxidativo

A gravidez é caracterizada por muitas alterações fisiológicas, como por exemplo, o aumento do suprimento sanguíneo (MANNAERTS et al., 2018). Hematologicamente, durante a gravidez, os neutrófilos estão aumentados devido à elevação do estresse fisiológico, bem como à apoptose neutrofílica prejudicada, enquanto os linfócitos são conhecidos por estarem reduzidos no período gestacional, seguido de um aumento destes últimos, durante o terceiro trimestre. Assim, considerando que o parto é uma situação altamente estressante que acarreta rápida leucocitose (CHANDRA et al., 2012).

Considerando o exposto no parágrafo acima, a geração da resposta inflamatória sistêmica na gestação resulta em grandes quantidades de EROs

circulantes, produzidas por células sanguíneas ativadas pelo órgão central, que regula a gravidez, a placenta, que constitui uma importante fonte de EROs (BURTON et al., 2011).

Durante a gestação normal, o desbalanço redox placentário está presente durante os três trimestres e é necessário para se obter a função celular normal, incluindo a ativação de fatores de transcrição sensíveis ao *status* redox e proteínas quinases, pois foi demonstrado que espécies oxidativas adequadamente controladas, servem como mensageiros de sinal celular indispensáveis, regulando a expressão de genes. Ressalta-se que a geração de espécies reativas constitui, por excelência, um processo contínuo e fisiológico, cumprindo funções biológicas relevantes, sendo assim, necessário para o desenvolvimento fetal (MANNAERTS et al., 2018; WU et al., 2015; SANCHEZ-ARANGUREN et al., 2014).

A circulação sanguínea materno-fetal representa claramente um desafio oxidativo à placenta humana. Mesmo em gestações normais, ocorre uma explosão de estresse oxidativo na placenta entre 10^a e 12^a semanas de gestação, que se resolve à medida que os tecidos placentários se adaptam ao novo ambiente oxigenado. Essa adaptação envolve um aumento na expressão e atividade das principais enzimas antioxidantes, como SOD e CAT (JAUNIAUX et al., 2000).

Durante a gravidez, a placenta é um local de metabolismo ativo de oxigênio, que gera continuamente o desbalanço redox. Portanto, a unidade feto-placentária gera antioxidantes abundantes para manter o sistema operacional sob controle. Estudos indicam que a atividade enzimática da CAT aumenta cerca de três vezes no período entre a 6^a e a 17^a semanas, atingindo seu aumento máximo durante as semanas 12^a a 17^a, o que sincroniza com o rápido aumento do estresse oxidativo, após o estabelecimento de circulação fetal (WU et al., 2015). Embora o estresse oxidativo seja uma característica comum e necessária da gravidez normal, o estresse oxidativo aumentado pode dar origem a diferentes estados de doença, como é o caso da PE (SULTANA et al., 2017; KURLAK et al., 2014).

Na PE, em decorrência da falha de invasão trofoblástica, ocorre uma perfusão sanguínea inadequada, levando a episódios de isquemia e reperfusão que aumentam a geração de EROs, gerando um desequilíbrio entre a produção dessas espécies e a atividade antioxidante endógena, sendo que tal desequilíbrio é o responsável por provocar ativação de neutrófilos e leucócitos. Na PE, a invasão das

artérias espiraladas do útero é limitada, sendo que apenas entre 30 e 50% das artérias sofrem a invasão do trofoblasto (POON et al. 2019; HUNG et al. 2006).

A maior produção de EROs em decorrência do processo de hipóxia/reperfusão pode se originar de duas fontes principais. A primeira consiste no vazamento de elétrons da cadeia respiratória nas mitocôndrias e a xantina desidrogenase/xantina oxidase (XDH/XO). Considerando que as enzimas mitocondriais não estão funcionando normalmente, determinado número de elétrons vazará e, em contato com o oxigênio, irá formar radicais como o radical ânion superóxido. Ressalta-se que durante a hipóxia há pouco ou nenhum oxigênio molecular disponível e, portanto, os elétrons se acumulam na cadeia respiratória. Paralelamente, esse acúmulo leva também a uma maior produção de radical ânion superóxido, pois haverá maior vazamento de elétrons para reagir com moléculas de oxigênio molecular que porventura se aproximem. Contudo, se o oxigênio for reintroduzido antes que a função celular seja totalmente comprometida, haverá uma produção exacerbada do radical, já que haverá mais oxigênio disponível para interagir com os elétrons previamente acumulados na cadeia respiratória (HUNG et al. 2006; YILDRIM et al. 2004; MANY et al. 2000).

A fonte de EROs subsequente é através da transformação de XDH em XO, sendo que em condições normais está presente a haloenzima XDH/XO, onde XDH é capaz de converter purinas em ácido úrico com a redução da nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) para NAD reduzido (NADH), enquanto XO metaboliza xantina e hipoxantina em ácido úrico, usando oxigênio como receptor de elétrons, o que conduz à formação de radical ânion superóxido. Na presença de hipóxia e como resposta às citocinas, a síntese de XDH/XO aumenta, e conseqüentemente a conversão da enzima em XO também. Por sua vez, a hipoxantina se acumula em decorrência da quebra do ATP. Assim, na reintrodução do oxigênio é gerada grande quantidade de superóxido (HUNG et al., 2006; YILDRIM et al., 2004; SILVA et al., 2002).

A média do diâmetro das artérias espiraladas de gestantes com PE é metade daquela observada na gravidez normal. Essa falência do remodelamento vascular impede uma resposta adequada ao aumento da demanda do fluxo sanguíneo que ocorre durante a gestação, diminuindo a perfusão útero-placentária e provocando isquemia da placenta, o que leva à produção de EROs. A mais comum das EROs é o radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), gerado nas células pela NADPH oxidase, xantina

oxidase e enzimas da cadeia transportadora de elétrons, como comentado acima (TORRES-CUEVAS et al., 2017).

O equilíbrio entre as EROs, tais como $O_2^{\bullet-}$ e $\bullet OH$, e a defesa antioxidante é essencial para a fertilização, embriogênese, implantação embrionária e crescimento e diferenciação placentária. Entretanto, a produção excessiva de EROs danifica as estruturas celulares, incluindo lipídeos, proteínas e DNA (TAYSI et al., 2019).

Resumidamente, a hipóxia/ reoxigenação que ocorre na PE é um estímulo potente para a ativação da xantina oxidase, uma importante fonte de geração de superóxido, que é abundantemente expressa em citotrofoblastos, sincitiotrofoblasto e células estromais vilosas.

As NADPH oxidases (NOX) são fontes importantes de superóxido em neutrófilos e células endoteliais vasculares e também foram relatadas em trofoblasto humano. A NOX é uma família de isoenzimas composta por hemoproteínas transmembranares e transportadores de elétrons. Sua função é catalisar a redução do oxigênio molecular à $O_2^{\bullet-}$ (HERNANDEZ et al., 2019). A família NOX é constituída por 7 diferentes membros de subunidades catalíticas, que incluem as NOX1, NOX2 (também chamada gp91^{phox}), NOX3, NOX4, NOX5 e a dual oxidases 1–2. A NOX2 é o protótipo da subunidade da NADPH oxidase da membrana plasmática e a maior parte do conhecimento sobre essa enzima é baseada em estudos sobre essa isoforma catalítica, sendo a isoforma mais descrita e expressa nas células fagocíticas (SUMIMOTO, 2008). A NOX foi descrita em vários tipos de células, especialmente nos neutrófilos, onde a produção de $O_2^{\bullet-}$ está envolvida na fagocitose, mas poucos estudos exploraram a isoforma do NOX na placenta humana (MANES, 2000). A isoforma placentária de NOX identificada parece ser diferente da isoforma de neutrófilos, sendo constituída pelas subunidades de 58 kDa e 33 kDa. (HERNANDEZ et al., 2019).

O $O_2^{\bullet-}$ é também formado a partir da adição de um elétron ao oxigênio molecular, é gerado por vazamento de elétrons do complexo I e III da cadeia transportadora de elétrons, não somente é proveniente da ativação do complexo NADPH oxidase (Equação 1), mas também da reação envolvendo a xantina oxidase presente na membrana celular (TAYSI et al., 2019; TORRES-CUEVAS et al., 2017).

Além disso, as mitocôndrias são importantes fontes de $O_2^{\bullet-}$ e, como a presença deste ânion-radical pode causar sérios prejuízos, elas são ricas em SOD que o converte em H_2O_2 (SIES, 2017).

Equação 1: Reação da formação do ânion-radical superóxido.
 $NADPH + 2 O_2 \rightarrow NADP^+ + 2 O_2^{\bullet-} + H^+$ (1)

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é pouco reativo frente às moléculas orgânicas na ausência de metais de transição. No entanto, exerce papel importante no estresse oxidativo, por ser capaz de transpor as membranas celulares facilmente e gerar o radical hidroxila, na presença de metais de transição, como o íon ferroso (Fe^{2+}). É facilmente convertido no radical HO^{\bullet} por meio da reação de Fenton ou de Haber-Weiss, de acordo com as equações 1-3 (ZENG et al., 2019; SIES, 2017).

Equação 2: Reação de Fenton (I, II) e Haber-Weiss (III).

1. $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + HO^{\bullet}$
2. $Fe^{2+} + O_2^{\bullet-} \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + HO^{\bullet}$
3. $O_2^{\bullet-} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + HO^{\bullet} + OH^-$ (2)

O H_2O_2 também pode favorecer a formação do ácido hipocloroso (HOCl) através da reação com íons cloreto (Cl^-), pela ação da mieloperoxidase (MPO), liberada por neutrófilos e monócitos ativados, como pode ser observado na Equação 3. O HOCl é um potente agente oxidante que reage rapidamente e de maneira inespecífica com ácidos graxos poli-insaturados, tióis, nucleotídeos, aminoácidos aromáticos e alifáticos, e compostos nitrogenados, causando dano oxidativo às biomoléculas, principalmente à bicamada fosfolipídica da membrana e induzindo efeito citotóxico (HO et al., 2013).

Equação 3: Reação da formação do HOCl.



O radical HO^{\bullet} é uma espécie altamente reativa e deletéria ao organismo, pois devido à sua meia-vida muito curta e à sua rápida taxa de difusão (10^7 - $10^{10} M^{-1}s^{-1}$), dificilmente pode ser sequestrado *in vivo*. Estes radicais frequentemente atacam as

moléculas por abstração de hidrogênio e por adição a insaturações e favorece a oxidação indiscriminada de proteínas e lipídios (SIES et al., 2017).

A Tabela 2 sumariza as principais espécies reativas relacionadas com a PE e suas principais funções.

Tabela 2: Espécies reativas relacionadas com a PE e suas principais funções

ESPÉCIE REATIVA	FUNÇÃO
Ânion-radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$)	<p>Gerado continuamente por diversos processos celulares (cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria, no microssomo, por meio de enzimas como xantina oxidase e NADPH oxidase), ou pela redução monoelétrica de O_2. Desempenha um papel central, uma vez que induz a produção de outros intermediários reativos. Rapidamente desaparece em solução aquosa por reação de dismutação:</p> $O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ <p>Em solução aquosa é um agente redutor forte. Sua habilidade em reduzir Fe^{3+} a Fe^{2+}, pode acelerar a reação de Fenton:</p> $O_2^{\cdot-} + Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+} + O_2$ <p>Em solução aquosa é um oxidante fraco, porém pode formar espécie reativa de nitrogênio: $O_2^{\cdot-} + NO^{\cdot} \rightarrow ONOO^-$</p> <p>É permeável a membranas. Em fagócitos, como neutrófilos e macrófagos, é um dos microbicidas mais importantes.</p>
Peróxido de hidrogênio (H_2O_2)	<p>Intermediário formado pela reação de dismutação de $O_2^{\cdot-}$ catalisada pela enzima SOD, pela redução de dois elétrons na molécula de O_2 e pela ação de diversas enzimas oxidases <i>in vivo</i>, localizadas nos peroxissomas. É muito difusível dentro e entre as células <i>in vivo</i>. Constitui um agente oxidante fraco e um agente redutor, também fraco, reagindo lentamente com tióis, com sais de ferro e cobre reduzidos, com proteínas heme e peroxidases para iniciar reações radiculares e peroxidações lipídicas.</p>
Radical hidroxila ($\cdot OH$)	<p>É o mais reativo e mais lesivo radical conhecido e para o qual, uma vez formado, o organismo humano não dispõe de mecanismo de defesa. Capaz de reagir com uma série de endobióticos, causa modificação no DNA (com modificação das bases e quebras das fitas), danos nas proteínas e inativação enzimática, peroxidação lipídica. Contudo, possui âmbito limitado de ação (poucos diâmetros moleculares).</p>
Peroxinitrito ($ONOO^-$)	<p>Intermediário formado pela reação:</p> $O_2^{\cdot-} + NO^{\cdot} \rightarrow ONOO^-$ <p>Instável, tempo de vida curto, oxidante potente, propriedades semelhantes às do radical hidroxila. Causa danos a muitas moléculas biológicas, inclusive a grupos S-H das proteínas, provoca hidroxilação e nitração de compostos aromáticos. Forma $\cdot OH$ independente da presença de metal de transição.</p> $ONOO^- + H^+ \rightarrow \cdot OH + NO_2$ <p>Após protonação, rearranja-se para nitrato e interage com bicarbonato (CO_2/HCO_3^-), com alteração de sua reatividade</p> $ONOOH \rightarrow [^{\cdot}NO_2 \cdot OH] \rightarrow NO_3^-$ <p>Em presença de CO_2, o peroxinitrito forma o peroxicarboxilato nitroso, que se decompõe, segundo as etapas 1 e 2. O CO_2 está presente em elevada</p>

	<p>concentração no compartimento intra e extracelular, o que favorece a formação do $\text{CO}_3^{\bullet-}$, em presença de ONOO^-.</p> <p>$\text{ONOO}^- + \text{CO}_2 \rightarrow \text{ONOOCO}_2^- \rightarrow \text{NO}_2\text{OCO}_2^-$</p> <p>(1) $\text{NO}_2\text{OCO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^- + \text{CO}_2$ (65%)</p> <p>(2) $\text{NO}_2\text{OCO}_2^- \rightarrow \cdot\text{NO}_2 + \text{CO}_3^{\bullet-}$ (35%)</p> <p>O ânion radical carbonato formado é mediador de diversas reações de oxidação e nitração.</p>
Óxido nítrico (NO•)	<p>Consiste um marcador de espécies reativas de nitrogênio, capaz de ser metabolizado rapidamente em produtos estáveis, ou seja, nitrito e nitrato, na maior parte dos fluidos corporais, incluindo o plasma.</p>

Fonte: Adaptado de Barreiros et al. (2006); Vasconcelos et al. (2007); Sies et al. (2017).

2.1.5 Principais biomarcadores e enzimas antioxidantes relacionados à PE

2.1.5.1 Definição de biomarcadores

Os biomarcadores são características que podem ser objetivamente medidas e avaliadas como um indicador de processos biológicos e patogênicos normais ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica. Diferentes técnicas laboratoriais são usadas para detectar ERO/ ERN in vitro, como a ressonância de spin eletrônico com ou sem reagentes de spin-trapping ou quimiluminescência. ERO/ ERN podem ser medidos diretamente nas células/ tecidos ou fluidos corporais (TAYSI et al., 2019; SIES et al., 2017).

2.1.5.2 Malondialdeído (MDA)

O malondialdeído (MDA) é um subproduto da peroxidação lipídica, derivado da β -ruptura de endociclização de ácidos graxos polinsaturados com mais de duas duplas ligações, tais como ácido araquidônico, docosaexanóico e linoleico, ou seja, o MDA é o produto final da degradação não enzimática dos ácidos graxos poli-insaturados decorrentes do ataque das EROs (DA COSTA SILVA et al., 2011).

As EROs, quando presentes em excesso, são capazes de gerar o estresse oxidativo que, por sua vez, irá acarretar, conseqüentemente, na peroxidação lipídica, bem como na formação de seus subprodutos, incluindo-se o MDA. Tais processos têm sido considerados como sendo os responsáveis pela ocorrência de baixa perfusão placentária, o que conduz à adesão de plaquetas e leucócitos ao endotélio vascular causando vasoconstrição e aumento da resistência vascular periférica (WU et al., 2019; TAYSI et al., 2019).

O MDA pode induzir a disfunção endotelial, danificar as membranas celulares diretamente, além de reduzir o vasorrelaxamento endotelial. Tem sido sugerido na literatura que níveis sanguíneos mais altos de MDA se correlacionam à gravidade da PE, bem como que no período entre 20^a -23^a semanas de gestação, em mulheres com PE, os níveis de MDA estão mais elevados em comparação a gestantes saudáveis (AL-KURASHY et al., 2018).

2.1.5.3 Superóxido Dismutase (SOD)

As superóxidos dismutases são metaloenzimas que protegem os alvos do ataque do ânion superóxido em até 97%. Elas são a primeira e mais importante linha do sistema de defesa enzimático. Catalisam a dismutação de ânion superóxido em H₂O₂ e O₂ (LITTLE; HOOPKINS, 2019). Estão presentes essencialmente em todas as células do corpo e atualmente existem em três isoformas: a citoplasmática, Cu/ZnSOD (ou SOD1), a mitocondrial, MnSOD (ou SOD2) e a extracelular, Cu/ZnSOD (ou SOD3) (PERRY et al., 2010). Todas as isoformas da SOD agem por um mecanismo comum de dismutação do radical ânion superóxido, produzindo o peróxido de hidrogênio, que é menos potente (LITTLE; HOOPKINS, 2019; VASCONCELOS et al., 2007).

2.1.5.4 Catalase (CAT)

A CAT é uma enzima antioxidante que se localiza predominantemente nos peroxissomos celulares e converte o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. A CAT apresenta uma das mais altas taxas de rotatividade para todas as enzimas, sendo que uma molécula de catalase pode converter aproximadamente 6 milhões de moléculas de peróxido de hidrogênio a cada minuto (VALKO et al., 2007). É mais eficaz quando há concentrações elevadas de H₂O₂. Em baixas concentrações desse composto ou outros peróxidos, o sistema de defesa da glutathione entra em ação (TAYSI et al., 2019). A atividades e concentrações de CAT placentária variam à medida que a gestação progride podendo aumentar em aproximadamente três vezes no período entre as 6^a e 17^a semanas, atingindo seu aumento máximo nas 12^a a 17^a semanas, o que sincroniza com o rápido aumento do estresse oxidativo placentário após o estabelecimento da circulação materno-fetal (WATSON et al., 1998).

2.1.5.5 Glutathione (GSH)

A glutathione é considerada a molécula mais abundante entre os antioxidantes endógenos. A glutathione é um tripeptídeo que possui grupo sulfidril na sua estrutura e pode ser encontrado em sua forma reduzida de tiol (GSH) ou oxidada, glutathione dissulfeto (GSSG), na qual dois tripeptídeos (γ -L-glutamil-L-cisteinil-glicina) são ligados por uma ponte dissulfeto (FORMAN et al., 2008).

A enzima responsável pela redução de GSSG a GSH é a glutathione redutase, uma flavoproteína que utiliza NADPH como fonte de elétrons e prótons para a reação de redução (LU, 2009). A enzima responsável pela oxidação é a glutathione peroxidase (GPx), que exerce papel importante na detoxicação de substâncias geradas pelos xenobióticos, como peróxido de hidrogênio ou peróxidos orgânicos, cofatores para formação de GSSG (SIES et al., 2017).

Ressalta-se a importância da razão GSH/GSSG que é normalmente utilizada para estimar o estado de oxidorredução (referente à toxicidade) dos sistemas biológicos, sendo crucial na manutenção da homeostase intracelular (HUBER et al. 2008). Em condições de estresse oxidativo, a GSH converte-se em GSSG, o que leva a uma diminuição da razão GSH/GSSG. Na célula, cerca de 90% da glutathione está localizada no citoplasma, 10% na mitocôndria e uma pequena porcentagem no retículo endoplasmático (BACHHAWAT; YADAV, 2018). Aproximadamente 85% da glutathione celular total está livre, enquanto o restante está ligado às proteínas (SIES et al., 2017).

A GSH reage diretamente com várias espécies e oxidantes como o H_2O_2 , numa reação catalisada pela GPx, onde é convertida à sua forma oxidada (GSSG). Além disso, pode reduzir o ácido desidroascórbico que é formado na conversão do radical α -tocoferoxila em α -tocoferol, um antioxidante lipofílico que interage com os grupos acila poli-insaturados de lipídios, estabiliza as membranas e estimula várias EROs e radicais oxi lipídicos. Como antioxidante, reage com EROs e ERNs produzidas em associação com transporte de elétrons, metabolismo xenobiótico e respostas inflamatórias. Essas ações são atribuídas ao seu grupo sulfidril (-SH), que apresenta boa polaridade e capacidade de doar elétrons, tornando a GSH um excelente agente redutor (COUTO et al., 2016).

2.5.5.6 Peróxido de hidrogênio (H_2O_2)

O H_2O_2 , apesar de ser uma espécie pouco reativa, é capaz de inativar enzimas, principalmente pelas oxidações de grupos tióis essenciais. Seu maior potencial oxidante é exercido, entretanto, pela forma indireta, por meio da geração do radical $\bullet OH$, produzido via reação de Fenton. O peróxido de hidrogênio, nestas condições, torna-se um bom oxidante, pois em concentrações adequadas e combinado ao ferro pode aumentar sua toxicidade de 10 até 100 vezes, desta forma, sendo prejudicial às estruturas celulares. O H_2O_2 tem vida longa, é capaz de atravessar camadas lipídicas, pode reagir com a membrana eritrocitária e com proteínas ligadas ao Fe^{2+} (SCHNEIDER; CUERVO, 2013).

Na Tabela 3, estão apresentados dados de trabalhos que avaliaram biomarcadores de estresse oxidativo e antioxidantes em gestantes com PE. Como pode ser visto a análise dos biomarcadores de estresse oxidativo e antioxidantes ocorre no sangue, placenta e cordão, na maioria dos estudos é observado estresse oxidativo, havendo aumento de MDA e proteínas carboniladas e diminuição de antioxidantes tais como CAT, SOD e glutathiona nas gestantes com PE.

Tabela 3: Perfil dos marcadores de estresse oxidativo e antioxidantes em gestantes com pré-eclâmpsia.

Biomarcadores de estresse oxidativo e antioxidantes	Parâmetro avaliado	Tamanho da amostra	Tipo de estudo (local)	Referência
MDA	↑ Sangue	40 PE; 28 normais	Caso controle, Iraque	Al-Kuraishy et al. (2018)
	↑ Sangue	49 PE; 50 normais	Transversal, Nigéria	Ekun et al. (2018)
	↑ Sangue do cordão	71 PE; 72 normais	Coorte, Índia	Bharadwat et al. (2018)
	↑ Placenta e plasma	34 PE; 33 normotensas	Transversal, Turquia	Madazli et al. (2002)
	↑ Placenta	25 PE; 35 normotensas	Transversal, Índia	Sahay et al. (2015)
	↔ Sangue	50 PE; 50 normais	Caso controle, Brasil	Costa e Silva et al. (2013)
	↑ Sangue	280 PE; 290 normais	Experimental, Índia	Katri (2013)
	↑ Sangue	12 PE; 12 normais	Caso controle, Virginia	Takacs et al. (2001)
	↑ Placenta e sangue	18 PE; 23 normais	Transversal, Coreia	Kim et al. (2006)
	↑ Sangue do cordão	63 PE; 148 normais	Longitudinal, Índia	D'Souza (2016)
	↑ Placenta	30 PE; 30 normotensas	Transversal, Índia	Rani et al. (2010)
	↔ Sangue	19 PE; 19 normais	Prospectivo, Londres	Morris et al. (1998)

Proteína carbonilada	↔	Sangue	80 PE;78 normais	Tranversal, Romania	Mihu et al. (2015)
	⤴	Sangue	35 PE;35 normotensas	Caso controle, Brasil	Bernardi et al. (2008)
	⤴	Sangue	17 PE; 14 normais	Japão	Tsukimori et al (2008)
	⤴	Sangue	47 PE; 45 normais	Nimega	Zusterzeel et al. (2000)
	⤴	Placenta e sangue	60 PE; 50 normais	Tranversal, Turquia	Serdar (2003)
Catalase	⤵	Placenta	25 PE; 35 normotensas	Transversal, Índia	Sahay et al. (2015)
	⤴	Sangue	21 PE;19 normais	Prospectivo, Turquia	Noyan et al. (2006)
	⤵	Sangue	47 PE;48 normais	Transversal, Turquia	Kolusari et al. (2008)
	⤵	Sangue	28 PE;30 normais	Brasil	Lucca et al. (2016)
	⤵	Sangue	49 PE;50 normais	Transversal, Nigéria	Ekun et al. (2018)
SOD	⤴	Sangue	100 PE;100 normotensas	Caso-controle, Irã	Keshavarz et al. (2017)
	⤵	Sangue do cordão	63 PE; 148 normais	Longitudinal, Índia	D'Souza (2016)
	⤴	Sangue	32 PE; 60 normais	Prospectivo, Sérvia	Nikolic et al. (2016)
	⤵	Sangue	280 PE; 290 normais	Experimental, Índia	Katri (2013)
	⤵	Sangue	35 PE e 35 normotensas	Caso controle, Brasil	Bernardi et al. (2008)
	⤵	Placenta	20 PE; 18 normais	Australia	Vanderlelie et al. (2005)
	⤵	Placenta e sangue	70 PE; 10 normais	Transversal, Turquia	Mutlu-Torkogiu et al. (1998)

GSH e GPX	↗ Placenta (GPX)	25 PE; 35 normotensas	Transversal, Índia	Sahay et al. (2015)
	↗ Sangue (GPX)	50 PE; 50 normais	Prospectivo, Índia	Sharma et al. (2006)
	↘ Placenta (GPX)	20 PE; 18 normais	Transversal, Austrália	Vanderlelie et al. (2005)
	↘ Placenta (GSH)	30 PE; 30 normotensas	Transversal, Índia	Rani et al. (2000)
	↘ Sangue (GSH)	40 PE; 80 normais	Caso controle, Arábia	Siddiqui et al. (2013)
	↘ Sangue (GSH)	49 PE; 50 normais	Tranversal, Nigeria	Oloruntoba et al.(2018)
	↗ Placenta (GSH e GSSG)	9 PE; 17 normais	Tranversal	Neves et al (1997)

Legenda: ↗ - aumento no grupo de gestantes com PE; ↘ - diminuição no grupo de gestantes com PE; ↔ : semelhantes entre os grupos de gestantes com PE e saudáveis .

2.1.6 PE e o papel da Inflamação

A gravidez normal é caracterizada por uma resposta inflamatória sistêmica leve e se desenvolve à medida que a gravidez avança, sendo amplamente aceito que uma inflamação controlada é fundamental para uma reprodução feminina bem-sucedida, devido à sua participação em cada etapa da fertilidade, desde o ciclo menstrual até a gravidez precoce, e ainda durante o parto (CHIARELLO et al., 2018; NADEAU-VALLÉE et al.2016).

A literatura aponta que na gestação normal, há um predomínio da reação inflamatória do tipo 2, por ser responsável pela estimulação da invasão dos trofoblastos, já que a reação inflamatória do tipo 1 bloqueia essa invasão. Entretanto, em gestantes com PE, há uma estimulação exacerbada da reação inflamatória do tipo 1, dificultando a invasão trofoblástica e repercutindo na má placentação, sendo essa uma das hipóteses da origem das alterações que desencadeiam a PE (PRINS et al., 2009). A hipóxia placentária decorrente dessa invasão trofoblástica prejudicada aumenta a resposta imune Th1 caracterizada pela produção de interferon gama (IFN- γ), fator necrose tumoral alfa (TNF- α) e IL-2 quando comparado para a atividade Th2, que é caracterizada pela produção de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13 (PERUCCI et al., 2017; CATARINO et al., 2012).

Outra hipótese para essa resposta inflamatória é a apoptose das células da placenta com liberação na corrente sanguínea de microfragmentos de sinciciotrofoblasto, denominados de “debris placentários”, que podem causar dano endotelial e podem ter também ação pró-inflamatória (REDMAN; STAFF, 2015). Esses “debris”, que estão aumentados na gestação normal e muito aumentados na PE, estimulariam a reação inflamatória materna. Segundo a hipótese dos “debris placentários”, a invasão trofoblástica deficiente e as doenças maternas com acometimento vascular levariam à perfusão placentária reduzida, que, então, promoveria um aumento da destruição celular (BORZYCHOWSKI et al., 2006).

Assim, considera-se que o desenvolvimento anormal da placenta está associado com a resposta inflamatória desregulada na PE, sendo encontrada uma elevação notória de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-6 em gestantes com PE (LAU et al., 2013).

Ressalta-se que outros fatores como as EROs podem favorecer ainda mais a resposta inflamatória, já que essas espécies podem ativar o fator nuclear- κ B (NF- κ B) que promove a transcrição de genes envolvidos no processo inflamatório

(BERNARDI et al., 2012). O NF- κ B é um fator de transcrição heterodimérico, composto por cinco subunidades, destacando as subunidades p50/p65 presente no citoplasma em sua forma inativa ligado à uma proteína inibitória (I κ B). Quando a célula é ativada, ocorre a fosforilação de I κ B, permitindo a translocação de p50/p65 até o núcleo para transcrição de genes de citocinas pró-inflamatórias. O NF- κ B controla muitas respostas imunes e inflamatórias e é ativado por hipóxia e estresse oxidativo, condições características da PE (VAUGHAN; WALSH, 2012; STRIZ et al., 2011).

Além das EROs, os produtos finais de glicação avançada (AGEs), resultantes da glicação de proteínas ou outras biomoléculas, interagem com seus receptores (RAGEs), que estão localizados em uma grande variedade de tecidos. Por sua vez, estes podem favorecer a ativação do NF- κ B. Essa interação é responsável por desencadear a ativação de várias vias de sinalização, culminando com a ativação do NF- κ B, levando a um processo inflamatório. Na PE, considerando o processo inflamatório já instalado, o aumento na expressão de AGEs / RAGE culmina com uma maior produção de EROs, por meio da atividade da NADPH oxidase, aumento da estimulação de NF- κ B, com consequente liberação de O₂⁻ e seu efeito sobre •NO, resultando na formação de ONOO⁻, o que piora ainda mais o estresse oxidativo existente (GUEDES-MARTINS et al., 2013; SARGENT et al., 2003).

Assim, o processo oxidativo e inflamatório estão intrinsecamente ligados e ambos são reconhecidos como mediadores deletérios, propagando a patogênese e responsáveis pelas alterações fisiológicas observadas na PE (BORZYCHOWSKI et al., 2006).

O processo inflamatório pode estar associado à ativação imune crônica, que leva a uma produção aumentada de citocinas inflamatórias pelas células T pró-inflamatórias e a uma diminuição nas citocinas regulatórias e anti-inflamatórias, o que promove um estado inflamatório na PE (WU et al., 2019). Durante a doença, TNF- α e IL-6 aumentados estão presentes na circulação e nas células trofoblásticas da placenta, enquanto IL-10 e IL-4 estão diminuídas (AGGARWAL et al., 2019; PEIXOTO et al., 2016; KIM et al., 2006). Na placenta, as citocinas estão envolvidas com a modulação de processos fundamentais como: a) estado imunológico materno placentário; b) invasão e diferenciação do trofoblasto; c) crescimento placentário, proliferação e apoptose e d) homeostase metabólica e endócrina da placenta (BOWEN et al., 2002).

A gestante com PE, por apresentar resposta excessivamente inflamatória apresenta elevado risco de doença renal materna, doenças autoimunes e síndromes metabólicas, podendo conduzir a resultados adversos da gravidez, incluindo parto prematuro ou abortos espontâneos (NADEAU-VALLÉE et al., 2016).

2.1.6.1 Principais citocinas envolvidas na PE

2.1.6.1.1 IL-1

A família de citocinas IL-1 é constituída por onze proteínas, entre elas IL-1 α e IL-1 β , codificadas por onze genes diferentes (FIELDS et al., 2019), sendo as mais estudadas na gravidez. Ambas são expressas e secretadas pela placenta *in vitro* em resposta a hipóxia. Monócitos e macrófagos representam a principal fonte de IL-1 no organismo (NETEA et al., 2010); porém células endoteliais (MOORLAG et al., 2018), epiteliais e fibroblastos (HOLZBERG et al., 2003) também podem produzir IL-1 α e IL-1 β . A principal função de citocinas tipo IL-1 é controlar a resposta inflamatória decorrente de uma lesão tecidual causada por infecções virais, bacterianas, fúngicas e parasitárias ou por inflamação crônica (MANTOVANI et al., 2019).

A IL-1 β atua simultaneamente em vários tipos de células, regulando positivamente a produção de ciclooxigenase-2 e prostaglandina E2, os dois agentes mais eficientes na dilatação cervical (BELOUSOVA et al., 2019). Hertelendy et al. mostraram que IL-1 β e TNF- α estimulam a produção miometrial de ácido araquidônico, ativam o metabolismo fosfolipídico e promovem a produção de prostaglandinas (HERTELENDY et al., 2002). Tais efeitos da IL-1 β nas células miometriais são semelhantes à ação da ocitocina, que juntamente com a prostaglandina E2 pode elevar os níveis de cálcio nas células miometriais necessárias para a contração uterina. A IL-1 α regula a expressão e a atividade funcional da citocina pró-inflamatória (IL-1 β). A produção desequilibrada de IL-1 β e IL-1 α resulta em resposta inflamatória prolongada associada a danos nos tecidos e órgãos (BELOUSOVA et al., 2019).

2.1.6.1.2 IL-6

A IL-6, uma citocina multifuncional, sendo sintetizada por monócitos, células endoteliais, fibroblastos e outras células em resposta a microrganismos, mas também é estimulada por outras citocinas, principalmente IL-1 e TNF- α que desempenha uma gama de funções nos efeitos imunes celulares e humorais relacionados à inflamação, defesa do hospedeiro e injúria tecidual (NAGASHIMA; ISHII, 2018). A IL-6 medeia uma resposta imune protetora contra infecções

microbianas, a expressão reduzida de IL-6 observada na placenta pode predispor à infecção, impedindo uma resposta imune inata apropriada aos microrganismos (KONWAR et al., 2019). A citocina está envolvida na modulação da implantação embrionária e no desenvolvimento da placenta (PRINS et al., 2012).

Os níveis de IL-6 aumentam moderadamente na placenta, sendo que um aumento significativo no líquido amniótico e no líquido cervicovaginal é considerado um fator de risco para trabalho de parto prematuro e morbidade neonatal, incluindo paralisia cerebral (YOON et al., 2000) e displasia broncopulmonar (HEEP et al., 2003). A IL-6 parece estar entre os indicadores mais sensíveis e específicos do trabalho de parto prematuro associado à infecção (SYKES et al., 2012).

Alguns estudos mostram marcadores inflamatórios, como IL-6 e proteína c reativa, atuando diretamente na diminuição da disponibilidade do NO[•], promovendo uma redução da vasodilatação dependente do endotélio, aumentando com isso o processo de disfunção endotelial através da diminuição da concentração de NO[•] e do aumento de endotelina (TEIXEIRA et al., 2014; LAMARCA, 2012). Além disso, a IL-6 é conhecida por ativar células endoteliais e induzir a produção de debris trofoblásticos necróticos da placenta, podendo ser importante na patogênese da PE (CHEN et al., 2015).

2.1.6.1.3 IL-8

A IL-8 foi primeiramente descoberta como um fator quimiotático, secretado por monócitos ativos e macrófagos que promovem a migração coordenada e direcional de células do sistema imunitário como neutrófilos, basófilos e linfócitos T. A citocina tem propriedades pró-inflamatórias e funciona através da ligação a seus receptores CXCR2. Vários estímulos favorecem a expressão de IL-8, tais como hipóxia, produção de EROs e secreção de fatores pró-inflamatórios como por IL-1 β , TNF α ou infiltração de macrófagos (SUN et al., 2016) e, no contexto da gravidez, acredita-se que atraia leucócitos para os tecidos gestacionais e o colo do útero no início do trabalho de parto prematuro (SYKES et al., 2012). Em se tratando da PE Ellis et al. (2001) relataram que os níveis de IL-8 foram maiores em PE grave comparado a PE moderado, assim a IL-8 parece ter um papel fundamental na gravidade da PE. Luppi e Deloia (2006) observaram um número maior de monócitos do sangue periférico positivo para IL-8, em casos de PE. Estudos encontraram

níveis aumentados de IL-8 sérica na PE, que apoiou a papel da IL-8 nas respostas inflamatórias na PE (VELZING-AARTS et al., 2002; SUN et al., 2016).

2.1.6.1.4 Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)

O Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), também chamado de caquexina ou caquetina, é uma citocina inflamatória pleiotrópica, desempenhando papel principal na cascata das citocinas e estimulando a síntese de outras citocinas (LIN et al., 2019). Foi primeiramente isolada em 1975 e identificada como um fator citotóxico responsável por necrose e hemorragia tumoral (CARSWELL et al., 1975).

A proteína TNF- α é primeiramente produzida como uma proteína transmembrana contendo 212 aminoácidos (VARFOLOMEEV; VUCIC, 2018). A principal fonte de TNF- α é o fagócito mononuclear ativado por moléculas de lipopolissacarídeos (LPS), liberado em grande quantidade em infecções por bactérias gram-negativas (KIKUCHI-UEDA et al., 2017), embora linfócitos T estimulados por antígenos, células NK ativadas, e mastócitos ativados possam também secretar esta citocina.

O TNF- α está envolvido com a inflamação, sendo responsável por ativar macrófagos, regular a produção de citocinas inflamatórias, aumentar a produção de mediadores lipídicos como prostaglandinas e fator ativador de plaquetas, induzir à apoptose do tecido trofoblástico (LIN et al., 2019), reduz a sensibilidade de várias células aos radicais livres, além de estar envolvido com o processo de aterosclerose e osteoclastogênese (CHENG et al., 2014). Na gravidez, Sidelnikova e Sukhikh (2010) demonstraram que os níveis séricos de TNF- α estavam aproximadamente 9 vezes mais elevados no terceiro trimestre em gestantes com risco de parto prematuro quando comparado com gravidez normal. Além disso, no início da gravidez, quantidades elevadas de TNF- α suprimem a migração de trofoblastos e iniciam a apoptose celular na placenta.

O TNF- α suprime a produção de fatores vasodilatadores, como o óxido nítrico diminuindo a expressão de eNOS nas células endoteliais, resultando na diminuição da formação de NO \bullet e/ou aumentando a produção de radical ânion superóxido via ativação de NAD(P)H oxidase, no qual NO \bullet pode reagir com radical ânion superóxido para formar peroxinitrito (ONOO \bullet). Além disso, o TNF- α pode induzir a formação de vasoconstritores, como tromboxano e endotelina-1, que são aumentados em pacientes com PE. O TNF- α também pode favorecer alterações

mitocondriais, resultando em maior produção de EROs. Ademais, o TNF- α aumenta a expressão de moléculas de adesão pelo endotélio como ICAM-1 (Molécula de adesão intercelular 1), e induz a expressão do fator pró-coagulante tecidual. Todas essas alterações podem levar a um estado pró-inflamatório e pró-coagulante semelhante ao descrito em mulheres com PE (WEEL et al., 2016; CACKOVIC et al., 2008).

A literatura mostra o grande envolvimento do TNF- α na PE, onde foi detectada uma elevação dos níveis de TNF- α no soro materno, no cordão umbilical (TOSUM et al., 2010; PERAÇOLI et al., 2007) e na placenta (KIM et al., 2006) quando comparado às gestantes normotensas. Na vasculatura, tanto o TNF- α quanto a IL-6 aumentam, contribuindo para a disfunção endotelial, caracterizada pelo aumento das moléculas de adesão e da permeabilidade das células endoteliais, característica marcante da PE (ZARATE et al., 2014).

2.1.6.1.5 Interferon-gama (IFN- γ)

Conhecida como citocina Th1 pró-inflamatória, o IFN- γ pode ser produzido espontaneamente por células natural killer (NK) isoladas de decíduas humanas no início da gravidez (LIDSTROM et al., 2003), sendo necessário inclusive para a remodelação dos vasos sanguíneos durante a gestação (WEISSENBACHER et al., 2014). Evidências demonstram que o IFN- γ pode inibir a migração e invasão de citotrofoblastos, bem como desencadear modificação artéria espiral, que pode estar relacionada à etiologia do PE (MONK et al., 2005). Na metanálise realizada por Yang et al. (2014), os autores sugerem que níveis elevados de IFN- γ podem estar associados com o aparecimento da PE.

2.1.6.1.6 IL-11

A IL-11 é uma citocina pleiotrópica que regula o ciclo celular, invasão e migração de diferentes tipos de células, desempenhando papel crítico no desenvolvimento placentário. Exerce, por sua vez, diversas funções biológicas e é responsável por mediar inúmeros processos pró e anti-inflamatórios. Além disso, facilita a decidualização e parece exercer uma função essencial na implantação do

embrião (WINSHIP et al., 2015; BASAR et al., 2010; ZOURBAS et al., 2001), mediando a migração e invasão de trofoblastos humanos (PAIVA et al., 2009).

Estudos in vitro com células humanas têm demonstrado que a IL-11 pode impedir a invasão trofoblástica, contudo estudos in vivo ainda não terem confirmado tal ação (SONDEREGGER et al., 2011; PAIVA et al., 2009). Em ratos, foi observado por Winship et al. (2015) que IL-11 aumentada contribui para a invasão trofoblástica e remodelamento da artéria espiralada uterina prejudicadas, conduzindo ao surgimento de características semelhantes às observadas na PE, incluindo a elevação da pressão arterial sistólica, proteinúria, além de RCIU.

A quantificação de IL-11 sérica durante o primeiro trimestre de gestação, independente de a mulher desenvolver PE ou não no decorrer da gravidez, revelou aumento significativo deste marcador naquelas que desenvolveram PE subsequentemente, implicando um potencial papel causador de IL-11 em relação a PE. Contudo, mais estudos em humanos precisam ser conduzidos para elucidar a real atividade da IL-11 nessa doença (WINSHIP et al., 2018; WINSHIP et al., 2015).

2.1.6.1.7 IL-33

IL-33 constitui um dos membros da família da IL-1, atuando como um potente condutor da resposta imune Th2. Está presente em células endoteliais e epiteliais de tecidos humanos, agindo como um mediador de inflamação e apresenta-se como uma citocina pró-inflamatória (BENEVENTI et al., 2019; CHEN et al., 2018).

Em gestações normais as concentrações de IL-33 são inalteradas, enquanto as concentrações de seu receptor aumentam no terceiro trimestre tanto em gestações normais, quanto na PE. Tem sido sugerido que o aumento nos níveis do receptor de IL-33 na PE pode representar uma tentativa de regulação nos níveis da citocina, conduzindo ao aumento do padrão de resposta imune Th1, com característica pró-inflamatória (BENEVENTI et al., 2019; ROMERO et al., 2018; GOKDEMIR et al., 2016).

Estudos realizados em mulheres com PE em comparação aos controles mostram resultados controversos, onde Granne et al. (2011) observaram elevados níveis dos receptores de IL-33 no sangue daquelas mulheres com a doença, e por outro lado, Gokdemir et al. (2016) encontraram menores níveis da citocina em

mulheres com PE. Por sua vez, Chen et al. (2018) avaliaram a atividade de IL-33 em tecidos placentários de mulheres com PE e comparou com o papel da citocina in vitro. Os achados demonstraram redução na produção de IL-33 associada a diminuição da capacidade funcional das células trofoblásticas, induzindo assim à insuficiência placentária relacionada ao desenvolvimento da PE.

2.1.6.1.8 IL-13

IL-13 é uma citocina pleiotrópica e constitui um potente mediador da inflamação com resposta imune do tipo Th2, sendo capaz de exercer funções celulares distintas (MARONE et al., 2019). É observado que esta citocina pode modular respostas de outras citocinas como a IL-1 β e o TNF- α . Tem ação anti-inflamatória e potencial como terapia anti-inflamatória para prevenir o parto prematuro, sendo produzida por trofoblasto, decídua e âmnion, além de desempenhar papel essencial na gravidez. Contudo, ressalta-se que o conhecimento acerca do papel biológico de IL-13 em tecidos relacionados à gestação é limitado (BRYANT et al., 2017).

2.1.6.1.9 IL-4

A IL-4 é uma glicoproteína com propriedades anti-inflamatórias e produzida por linfócitos-T-CD4, mastócitos, eosinófilos e basófilos. A IL-4 por ser uma IL secretada por células que apresentam atividade Th2, possui, portanto, um papel colaborador no bom desenvolvimento da gravidez (CHATTERJEE et al., 2014). No estudo de Davena et al. (2016) gestantes com PE grave houve redução da concentração de citocinas IL-4 e IL-10.

2.1.6.1.10 IL-10

A IL-10 foi caracterizada como um composto capaz de inibir a produção de interferon (IFN) pelas células T (PESTKA et al., 2004). A IL-10 possui propriedades anti-inflamatórias, cuja principal função é a regulação do sistema imune, pois inibe de maneira potente a expressão e/ou a produção de citocinas pró-inflamatórias (VOLP, 2008). É secretada por Tregs, mas a citocina também estimula a produção de Tregs a partir de células T virgens. A IL-10 medeia a inibição de citocinas inflamatórias secretadas Th1 e fornece um equilíbrio importante para a inflamação

na interface materno-fetal (CHENG et al., 2015; MOBINI et al., 2016). A IL-10 tem três importantes papéis benéficos na gravidez normal como uma das principais citocinas na resposta celular Th2: promover placentação bem-sucedida, controlar a inflamação e regular a função vascular (CHENG et al., 2015).

A produção placentária de IL-10 é elevada no primeiro e segundo trimestre de gestação, quando comparada com a gestação a termo. A produção uterina de IL-10 e de seu receptor é regulada positivamente quando comparada com a produção pelo útero não grávidico (CHATTERJEE et al., 2014). Durante a PE, níveis reduzidos de IL-10 foram observados na placenta (WEEL et al., 2016). O aumento na produção de IL-10 tem sido associado com sucesso gestacional, enquanto baixos níveis têm sido encontrados em gestantes com PE (HARMON et al., 2016).

Por fim, a atividade inflamatória conduz para a disfunção endotelial, por aumentar a expressão das moléculas de adesão e a permeabilidade vascular. Além disso, o TNF- α estimula a expressão gênica de endotelina, um potente vasoconstrictor, além de ativar células endoteliais e diminuir a síntese de NO $^{\bullet}$. Adicionalmente, o estresse oxidativo placentário, em um ciclo metabólico (estresse oxidativo-inflamação-estresse oxidativo), também contribui com a inflamação vascular através da produção de IL-6 e TNF- α , favorecendo o recrutamento de células do sistema imune, o que agrava a disfunção endotelial já estabelecida como descrito na Figura 1 (HARMON et al., 2016).

Na Tabela 4 estão apresentados alguns trabalhos avaliando as principais citocinas envolvidas nas gestantes com PE. Como pode ser visto a análise das citocinas ocorreu na placenta e cordão sendo que na maioria dos estudos é observado um aumento de citocinas com propriedades pró-inflamatórias e diminuição de citocinas anti-inflamatórias em gestantes com PE.

2.1.6.1.11 Mieloperoxidase (MPO)

A MPO é uma hemoproteína produzida e liberada por neutrófilos e monócitos ativados, e o aumento da MPO é considerado importante na fisiopatologia das doenças cardiovasculares (HUNG et al., 2012). Tradicionalmente tem sido vista como uma enzima microbicida, a MPO também induz oxidação de lipoproteínas de baixa densidade, ativa metaloproteinases e consome oxidativamente o NO derivado do endotélio. No estudo de Shukla e Walsh (2015) demonstrou que gestantes

obesas e com PE tiveram maior presença de MPO na vasculatura sistêmica como resultado da infiltração de neutrófilos. Gandley et al (2008) concluem que os níveis de MPO aumentam significativamente na circulação e na placenta de mulheres com PE. Especula-se que a MPO possa contribuir para o dano oxidativo relatado no endotélio e na placenta de mulheres com PE.

Tabela 4: Perfil das citocinas em gestantes com pré-eclâmpsia.

Citocinas	Parâmetro avaliado	Tamanho da amostra	Tipo de estudo	Referência
IL1	↗ Sangue	45 PE; 30 normais	Prospectivo, Turquia	Koçyigit et al. (2004)
	↗ Sangue, sangue do cordão umbilical e placenta	60 PE; 30 normais	China	Dong; Yin (2014)
	↔ Sangue	32 PE; 32 normais	Turquia	Alanbay et al. (2012)
	↗ Sangue	30 PE; 30 normais	Caso controle, Grécia	Kalinderis et al. (2011)
	↔ Sangue	20 PE; 20 normais	Venezuela	Casart et al. (2007)
IL4	↘ Sangue	50 PE; 50 normais	Macedônia	Daneva et al. (2016)
	↔ Sangue	33 PE; 32 normais	Sudão	Bakheit et al. (2009)
	↗ Sangue	25 PE; 25 normais	Kuwait	Omu et al. (1995)
IL6	↗ Placenta e sangue	33 PE; 33 normais	Brasil	Bernardi et al. (2012)
	↗ Sangue	50 PE; 50 normais	Caso controle, Brasil	Silva et al. (2013)
	↔ Placenta e cordão	50 PE; 50 normais	Prospectivo, Kuwait	Othman et al. (2001)
	↗ Placenta	55 PE; 139 normais	Índia	Aggarwal et al. (2019)
	↗ Placenta	10 PE; 10 normais	Estados Unidos	Lockwood et al. (2008)
	↗ Sangue	20 PE; 36 normais	Turquia	Kara et al. (2019)
	↘ Sangue	20 PE; 36 normais	Turquia	Artunc-Ulkumen et al.

(2015)

IL8	↑ Placenta e sangue	160 PE; 140 normais	China	Sun et al. (2016)
	↗ Sangue	41 PE; 80 normais	Caso controle, Turquia	Sahin et al. (2014)
	↗ Sangue	45 PE; 20 normais	Suécia	Ellis et al. (2001)
IL10	↗ Sangue	50 PE; 50 normais	Caso controle, Brasil	Silva et al. (2013)
	↓ Placenta	16 PE; 30 normais	Brasil	Peixoto et al. (2016)
	↓ Sangue	41 PE; 80 normais	Caso controle, Turquia	Sahin et al. (2014)
	↓ Placenta	11 PE; 12 normais	Australia	Hennessy et al. (2003)
	↓ Placenta	10 PE; 14 normais	Australia	Hennessy et al. (1999)
IL11	↑ Placenta	9 PE; 8 normais	Taiwan	Basar et al. (2010)
TNF-alfa	↗ Sangue	45 PE; 45 normais	Transversal, New Haven	Cackovic et al. (2008)
	↗ Placenta e sangue	18 PE; 23 normais	Transversal, Coreia	Kim et al. (2006)
	↗ Sangue	50 PE; 50 normais	Caso controle, Brasil	Silva et al. (2013)
	↗ Sangue	61 PE; 62 normais	Caso controle, Pitsburgo	Founds et al. (2008)
IFN-gama	↗ Sangue	17 PE; 15 normais	Caso controle, México	Arriaga et al. (2005)
	↔ Sangue	82 PE; 56 normais	Caso controle, Turquia	Arikan et al. (2012)
IL33	↑ Sangue	20 PE; 20 normais	-	Granne et al. (2011)
	↓ Sangue	41 PE; 41 normais	Caso controle, Turquia	Gokdemir et al. (2016)

Legenda: ↗ - aumento no grupo de gestantes com PE; ↓ - diminuição no grupo de gestantes com PE; ↔ : semelhantes entre os grupos de gestantes com PE e saudáveis

2.1.7 PE e disfunção endotelial

A disfunção endotelial refere-se a um desequilíbrio na produção de mediadores endoteliais que regulam o tônus vascular, a coagulação, a agregação plaquetária e a fibrinólise, sendo o tônus vascular o aspecto mais estudado. A disfunção endotelial também é frequentemente referida como piora no relaxamento dependente do endotélio, causada, entre outros aspectos, pela perda da biodisponibilidade do NO[•]. A disfunção endotelial é uma característica fundamental da PE e pode ser causada por uma variedade de fatores, incluindo espécies reativas de oxigênio, hipóxia ou citocinas, como TNF- α ou angiotensina II (WARRINGTON et al., 2013).

Durante o período gestacional, ocorre um aumento fisiológico da angiogênese para que ocorra o fenômeno da placentação. Alterações no balanço entre fatores pró-angiogênicos e anti-angiogênicos parecem estar envolvidas na patogênese da PE. Alguns fatores angiogênicos envolvidos, dentre outros, são o fator de crescimento de fibroblastos (FGF-2), o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e o fator de crescimento placentário (PIGF). O VEGF é fundamental no processo de crescimento de novos vasos sanguíneos, promove angiogênese, induz células endoteliais para a produção de NO[•] (vasodilatador) e prostaciclina, e pode ser importante no regulamento do tônus vascular. O VEGF está envolvido na manutenção endotelial de órgãos como cérebro, rins e fígado, sinalizando através de dois receptores, Flt-1 (tirosina quinase) e Flk-1 (do inglês fetal liver kinase-1) (SEZER et al., 2013).

Na PE, a deficiente invasão trofoblástica impede a remodelação das artérias espiraladas e compromete a angiogênese, resultando no aumento dos fatores antiangiogênicos e diminuição dos fatores pró-angiogênicos (VEGF e PIGF) (MALSHE; SIBAI, 2017).

Dentre os fatores antiangiogênicos, pode-se citar o sFlt-1 (tirosina quinase solúvel, do inglês *soluble fms-like tyrosine*) e a sEndoglin (do inglês *soluble endoglin*). O sFlt-1 parece ser um mediador chave no desenvolvimento de PE, onde encontra-se elevado em gestantes com PE e está relacionado com a disfunção endotelial. Dessa forma, o sFlt-1 se liga às moléculas de VEGF e PIGF circulantes e impede com que esses fatores angiogênicos se liguem aos seus receptores comuns

na membrana celular (WIDMER et al., 2007; CERDEIRA et al., 2018; CUI et al., 2018).

sFlt é produzido por vários órgãos, incluindo a placenta, fígado, pulmão, útero e rim. Estudos recentes mostraram expressão de sFlt1 placentária elevada e níveis aumentados de sFlt1 no líquido amniótico de mulheres com PE (YONEKURA et al., 2019; NIKUEI et al., 2015). Além disso, Romero e colaboradores (2008) examinaram níveis circulantes de VEGF e sFlt1 e sugeriram que diminuíram os níveis de VEGF resultantes da elevação sFlt1, que pode ser uma causa potencial na patogênese da PE. Além disso, dados mostram que a administração de sFlt-1 a ratas grávidas causa hipertensão, proteinúria e endoteliose glomerular (ZHOU et al., 2007).

Por sua vez, a sEndoglina resulta de uma reação proteolítica sobre a endoglina, comprometendo a capacidade angiogênica dos tecidos. Nos quadros de PE, a sEndoglina está aumentada causando aumento da permeabilidade vascular e hipertensão. Esta elevação é maior quanto mais precoce for a instalação da PE (VENKATESHA et al., 2006).

O aumento nos níveis circulantes de substâncias anti-angiogênicas, associado intimamente a uma desregulação no sistema renina-angiotensina, comprometem a atividade da NOS, causando lesão endotelial. A NOS é um grupo de isoenzimas que pode ser classificado em induzível (iNOS) e constitutivas: endotelial (eNOS) e neuronal (nNOS) (SHAHEEN et al., 2020). A NOS está envolvida com a síntese do NO, a partir do aminoácido não essencial *L*-arginina. A alteração na regulação ou função da eNOS pode ser um fator contribuinte adicional para a disfunção endotelial, podendo causar perfusão anormal na placenta, devido à diminuição na produção de NO, o que é evidenciado na PE (BEM et al., 2015; MUKOSERA et al., 2020). Além disso, evidências indicam que o estresse oxidativo persistente causa disfunção da eNOS, que desacoplada, deixa de gerar NO e passa a produzir espécies reativas de oxigênio, como o radical ânion superóxido (CINDROVA-DAVIES, 2009).

Além destas evidências, alguns trabalhos demonstram alterações nos mecanismos regulatórios da atividade da eNOS em gestantes com PE, devido ao aumento do inibidor endógeno da eNOS, a dimetil-*L*-arginina assimétrica – ADMA, ou via uma atividade aumentada de arginase, que reduz a disponibilidade do substrato *L*-arginina ou uma menor biodisponibilidade do co-fator BH4 (5,6,7,8-tetra-

hidro-L-biopterina), que é altamente sensível ao estresse oxidativo (SHAHEEN et al., 2020; TAYSI et al., 2019; LASKOWSKA et al., 2015).

Por fim, os fatores antiangiogênicos aqui descritos, sFlt-1 e sEndogлина têm sua produção placentária aumentada, em decorrência da elevação do estresse oxidativo que acomete a PE (LIU et al., 2016), favorecendo assim a ocorrência de alterações placentárias, bem como consequências adversas para a saúde do binômio mãe-filho.

2.1.8 Consequências da PE

Estudos comprovam que a PE se configura mundialmente como uma das mais significativas causas de desfechos materno-fetais desfavoráveis, que incluem, para as mães, eclâmpsia, falência renal e ruptura hepática, além de maior risco de doenças futuras como problemas renais, doenças cardiovasculares e síndrome metabólica (UDENZE, 2016; PAAUW et al., 2016). Para os conceitos, restrição de crescimento intrauterino, parto prematuro, asfixia neonatal, desregulação neurocognitiva, apgar baixo no 1º e 5º minutos e nascimento de crianças pequenas para idade gestacional (NOMURA et al., 2017; MOL et al., 2016; CRUZ et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2010).

Resultados de estudos mostraram que crianças a termo expostas à PE tiveram um risco aumentado para doenças endócrinas, nutricionais, metabólicas e sanguíneas (taxa de incidência: 1,6; intervalo de confiança de 95%: 1,5–1,7). Quanto às crianças pré-termo, foi observado padrão semelhante de hospitalização quando comparado às que foram de gestações normotensas, mesmo tendo diminuído o risco de paralisia cerebral (taxa de incidência: 0,7; intervalo de confiança de 95%: 0,6–0,9) (WU et al., 2009).

Apesar dos agravos relacionados ao binômio mãe-filho citados, os estudos limitam-se em pesquisar a relação da inflamação e do desbalanço redox na PE associado aos resultados perinatais adversos. Nessa condição, as pesquisas buscam evidências de que o aumento do estresse oxidativo e a diminuição do status antioxidante em casos de PE são as possíveis causas dos desfechos adversos, onde ocorrem alterações em nível de circulação fetal que podem ser responsáveis pelas diferentes complicações de recém-nascidos (HOWLADER et al., 2009).

Ademais, em estudo realizado em hospital de alta complexidade no sul da Índia observou-se que neonatos de mães com PE tiveram maior restrição de crescimento intra-uterino, prematuridade, maior incidência de morbidades e deficiência no desenvolvimento motor, associados ao estresse oxidativo (BHARADWAJ et al., 2018).

No estudo de coorte prospectivo de Oliveira et al. (2016), na rede pública de saúde do município de Maceió-AL, onde foram estudadas 90 gestantes com PE e 90 gestantes sem PE, a história prévia de PE (razão de prevalência [RP] = 1,57, intervalo de confiança de 95% [IC 95%] 1,47–1,67, $p = 0,000$) e cor da pele negra (RP= 1,15, IC 95% 1,00–1,33, $p = 0,040$) estiveram associadas à ocorrência de PE. Entre os recém-nascidos das gestantes com PE e gestantes sem PE, 12,5% e 13,1%, respectivamente, eram pequenos para a idade gestacional ($p=0,907$) e 25,0% e 23,2%, respectivamente, eram grandes para a idade gestacional ($p=0,994$), não havendo diferença entre os grupos para as referidas variáveis. A via de parto cesariana foi a mais frequente em ambos os grupos (58,0% e 53,9%, respectivamente).

Roy et al. (2015) verificaram maiores níveis de MDA plasmático materno, SOD eritrocitária e GPx em mulheres com histórico de PE quando comparadas aos controles. Além disso, crianças nascidas de mães com PE apresentaram baixo crescimento e desenvolvimento nos parâmetros antropométricos avaliados.

Assim, a literatura carece de estudos com o propósito de fortalecer as evidências científicas associando os resultados perinatais com a inflamação e o desbalanço redox, em casos de PE, tendo em vista o desenvolvimento de programas de saúde pública voltadas para este grupo, a fim de diminuir a morbimortalidade materna e infantil.

2.1.9 Tratamento da PE e perspectivas

Atualmente, não existe na literatura um consenso acerca das melhores estratégias de prevenção e tratamento da PE, especialmente no que se refere à nutrição. Em relação ao tratamento medicamentoso, a intervenção é baseada no controle dos sinais e sintomas da doença já estabelecida, como o controle dos níveis pressóricos, da proteinúria, entre outros. Contudo, apesar dos resultados ainda serem controversos, estudos vêm sendo realizados, considerando a suplementação

de compostos antioxidantes, bem como de compostos anti-inflamatórios, visando minimizar o estresse oxidativo e a inflamação, que são descritas na literatura como sendo interligadas na doença, apesar da necessidade urgente de novas pesquisas para elucidar essa relação (ACHAMRAH; DITISHEIM, 2018; CORREA et al., 2016).

A metanálise realizada pelo nosso grupo de pesquisa (TENÓRIO et al. (2018) avaliou a eficácia dos compostos antioxidantes na prevenção e tratamento da PE e não foi observado efeito na prevenção, porém foi visto efeito benéfico em relação à restrição de crescimento intrauterino (RCIU), no tratamento da doença. Por sua vez, em relação aos compostos anti-inflamatórios, há incertezas clínicas quanto à eficácia de sua suplementação. O composto mais utilizado é o ácido graxo ω -3, contudo os resultados são controversos (BURCHAKOV et al., 2017; SACCONI et al., 2016).

Nesse contexto, o papel dos antioxidantes e anti-inflamatórios durante a gravidez e sua possível ação na redução do risco de PE, bem como na melhora da progressão da doença, necessitam de mais ensaios clínicos randomizados, em maior escala, que avaliem a eficácia de tais compostos sobre a PE. Logo, ainda não foram estabelecidas recomendações específicas para sua ingestão, no que diz respeito à referida patologia (PHANG et al., 2018; ACHAMRAH; DITISHEIM, 2018).

Por sua vez, o tratamento conservador da PE inclui a restrição dietética de sal e a utilização de fármacos anti-hipertensivos. Os objetivos do tratamento são prevenir a eclâmpsia, controlar a pressão sanguínea materna e favorecer o nascimento do feto. Quando o parto não é possível, pacientes com PE leve recebem sulfato de magnésio como profilaxia para convulsões. No entanto, mulheres com pressão arterial maior ou igual a 160 x 110 mmHg são tratadas com agentes hipotensores, a hidralazina e a nifedipina são utilizadas como tratamento da crise hipertensiva. Quando há necessidade de tratamento de manutenção, o fármaco de escolha é a metildopa, usada por via oral (LUIZON et al., 2017). Em casos mais graves, pode ser necessária ainda a internação hospitalar, para que haja um monitoramento adequado da situação de saúde da mulher e do feto (TENÓRIO et al., 2018; MOL et al., 2016; MALACHIAS et al., 2016; SMUTS et al., 2003; OLSEN et al., 2000).

O único tratamento definitivo para a PE consiste na interrupção da gravidez e a retirada da placenta. Muitas vezes esta medida é tomada prematuramente,

visando garantir a vida da mãe, do recém-nascido ou de ambos. Todas as outras modalidades terapêuticas destinam-se a manter estável o quadro clínico materno e conseguir a vitalidade fetal e materna. Vários estudos randomizados têm sido desenvolvidos visando a obtenção de uma alternativa terapêutica para a PE, incluindo o uso de aspirina, heparina, concentrado de antitrombina, agentes antiplaquetários, cálcio, L-arginina, óleo de peixe, vitaminas e outros antioxidantes. No entanto, todos estes estudos apresentam limitações, especialmente em relação ao número de gestantes avaliadas e os resultados mostram pouco ou nenhum benefício (MUJAWAR et al., 2016; HLADUNEWIC et al., 2006).

Atualmente, a aspirina é a única terapia com evidências robustas que apóiam seu uso para reduzir o risco de PE em mulheres de alto risco (GIL-VILLA et al., 2020). O uso de aspirina é baseado principalmente em sua atividade anti-trombótica e inibidora de tromboxanos (HYBIAK et al., 2020), embora evidências mais recentes sugiram que a aspirina possa mediar a patogênese da PE, influenciando diretamente a atividade de trofoblastos, como modular a produção de citocinas, favorecendo a diminuição de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, IL-8 e TNF-alfa, por exemplo), bem como o fator de crescimento placentário da proteína pró-angiogênica (PLGF), inibindo a apoptose e impedindo a diferenciação prematura (GIL-VILLA et al., 2020; KHANABDALI et al., 2018; ROLNIK et al., 2017). As recomendações atuais sugerem a administração de aspirina em baixa dose (75-150 mg) como profilaxia desde as 12 semanas de gestação até o parto. Quando administrada antes das 16 semanas de gestação, a dose baixa de aspirina tem um efeito modesto, mas consistente, estimado para reduzir o risco de PE em aproximadamente 10% sugerindo que a aspirina influencia a placentação precoce, além de reduzir a chance de recém-nascidos pequenos para a idade gestacional (PIG) em 24% (MEHER et al., 2017).

Assim, a identificação de fatores específicos e vias de sinalização envolvidas na patogênese da PE irão facilitar o desenvolvimento de terapias mais específicas e eficazes baseadas em mecanismos estratégicos para a doença, a partir de evidências científicas, o que irá ser capaz de minimizar as consequências negativas à saúde materna e fetal.

3. HIPÓTESE

O desbalanço redox e a inflamação em placentas de gestantes com pré-eclâmpsia estão relacionados aos resultados perinatais adversos.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar o desbalanço redox e a inflamação em placentas de gestações com pré-eclâmpsia e relacioná-los aos resultados perinatais adversos.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o perfil socioeconômico, clínico, de estilo de vida e nutricional de gestantes com PE;
- Comparar os marcadores de desbalanço redox e de inflamação na placenta de com PE e sem PE;
- Descrever os principais resultados perinatais de gestações com PE.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo transversal, que foi desenvolvido na maternidade do hospital universitário do município de Maceió-AL, referência em gestações de alto risco no ano de 2017.

5.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO

O presente estudo incluiu 100 gestantes com diagnóstico de PE e 50 gestantes saudáveis (sem PE) e seus conceptos. Este estudo faz parte de um projeto maior de pesquisa intitulado “Caracterização de biomarcadores inflamatórios e de desequilíbrio redox em gestantes com pré-eclâmpsia: relação com o estado nutricional e com as repercussões maternas e fetais” financiado pelo Programa de Pesquisa para o Sistema Único de Saúde (PPSUS), processo nº 35743614.1.0000.5013 e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) (processo nº 35743614.1.0000.5013).

Foram excluídas gestantes que estavam em estado geral grave, de acordo com as informações colhidas no prontuário, tabagistas, sem condições de locomoção, portadoras de gestações múltiplas ou que apresentassem outras comorbidades que pudessem influenciar nos desfechos da gestação.

5.2 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal. Para a realização da pesquisa foi feita uma triagem com as gestantes na maternidade do hospital universitário para verificar as que preenchiam os requisitos previamente definidos para o grupo controle e para o grupo de gestantes com PE. A PE foi confirmada a partir de informações contidas nos prontuários das gestantes (inseridas por profissionais da instituição): idade gestacional superior a 20 semanas, pressão arterial sistólica maior ou igual a 140 mmHg ou pressão arterial diastólica maior ou igual a 90 mmHg e proteína urinária em 24 h maior que 300 mg ou labstix positivo para proteína ($\geq +/4+$) (marca biotécnica), com base nas recomendações do Colégio Americano de Ginecologia e Obstetrícia (ACOG, 2013), com os critérios ajustados de acordo com Brown et al. (2018). Em caso de ausência de proteinúria, a medida era feita pela equipe da pesquisa por meio de fita reativa (tira urinária) (JACINTO et al., 2012).

Toda gestante selecionada foi devidamente esclarecida e convidada a participar da pesquisa. Para isso, foi entregue e explicado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A).

Em seguida, foi aplicado o questionário padronizado (Apêndice B), incluindo: dados sociodemográficos e econômicos, pessoais, clínicos, estilo de vida e avaliação do estado nutricional.

Posteriormente, após o parto foi coletada imediatamente (até 20 minutos pós parto) uma amostra da placenta de cada participante tanto das gestantes com PE como de gestantes controle, para realização das análises dos marcadores de desbalanço redox e inflamatório, além da coleta em prontuário e declaração de nascidos vivos de informações sobre o recém-nascido e o pós-parto.

5.3 DADOS SÓCIODEMOGRÁFICOS E ECONÔMICOS

Foram coletados dados sobre idade, escolaridade, ocupação, renda familiar, número de filhos, saneamento básico, tipo de construção do domicílio, abastecimento e tratamento de água para consumo na região onde a família reside.

5.4 DADOS CLÍNICOS E OBSTÉTRICOS

Foram obtidas informações sobre idade gestacional, realização de pré-natal, intercorrências durante a gestação, gestações anteriores, entre outros.

5.5 DADOS DE ESTILO DE VIDA

Foram obtidas informações referentes ao consumo de álcool antes e/ ou durante a gestação.

5.6 AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL

Foi realizada avaliação antropométrica materna através da coleta das medidas de peso (kg) e altura (m) para determinação do IMC (kg/m^2), utilizando-se pontos de corte estabelecidos por Atalah Samur et al., (1997) para sua categorização, sendo classificados em baixo peso, peso adequado ou excesso de peso. ~~Foram coletadas também informações referentes ao peso e à estatura para o cálculo do IMC pré-gestacional, sendo estas classificadas de acordo com a OMS (BRASIL, 2013), para as mulheres adultas, bem como através das curvas de IMC/ idade para as adolescentes (OMS, 2007).~~ A balança utilizada foi digital com capacidade de pesagem de até 200 kg e estadiômetro com 2 metros de comprimento e precisão de 0,1 cm.

5.7 COLETA DE AMOSTRAS DE PLACENTA

Imediatamente após o parto, foi coletada uma amostra da placenta da gestante, por um participante da pesquisa devidamente capacitado para esta atividade. Os cortes foram realizados próximo da placa basal materna, onde as vilosidades terminais são mais abundantes (Figura 4). Após coletadas, as amostras foram acondicionadas em caixa térmica com gelo para serem transportadas ao laboratório de eletroquímica e estresse oxidativo da UFAL, onde foram devidamente armazenadas em -80°C até o momento das análises dos marcadores de estresse oxidativo e inflamatórios.

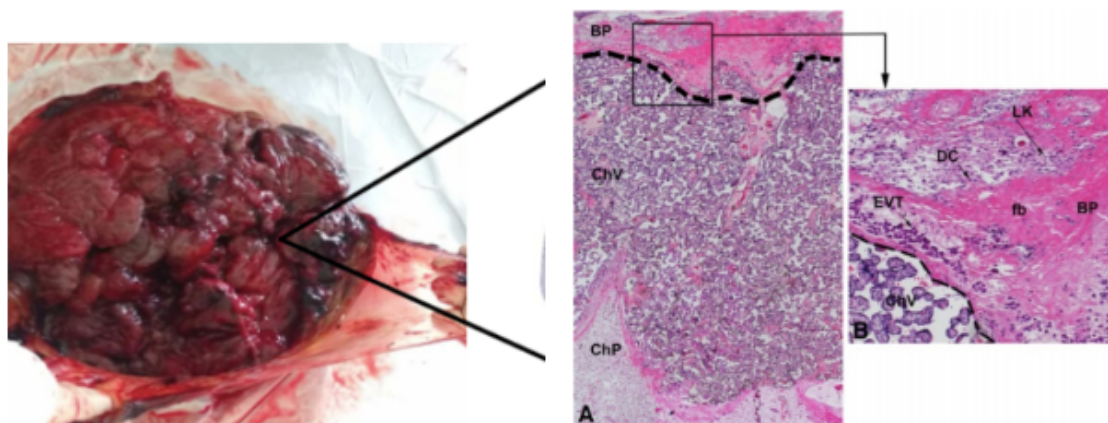


Figura 4: Face materna da placenta, região onde foram realizados os cortes para a coleta de amostras.

Fonte: Banco de dados do próprio autor. Baseado em: Borbely et al. 2014.

5.8 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS DO TECIDO

Para o homogenato foi utilizado o tampão Radioimmunoprecipitation assay buffer (RIPA) obtido da Cell Signaling® com pH de 7,4 com proporção de 1:9 (um comprimido para 50 mL de tampão RIPA). Além disso, usou-se o inibidor de protease obtido da Roche® (Alemanha), com o intuito de inibir a ação de proteases e preservar a integridade das proteínas e outros componentes celulares. Após, a centrifugação à 4 °C, 12000 rpm, por 10 minutos, o sobrenadante foi alíquotado e o extrato da placenta foi conservado a -80 °C, para futuras análises.

5.9 DOSAGEM DE PROTEÍNAS TECIDUAIS

Baseia-se no método proposto por Bradford (1976), utilizando tampão fosfato (PBS) pH 7,4. Em seguida, a solução preparada foi agitada e homogeneizada com o auxílio de vórtex. Após, 20 µL da amostra/padrões da curva (BSA) (1 a 5 mg dL⁻¹) foram pipetados, em duplicata, nos poços da microplaca (visível), seguida da adição de 200 µL de reagente de Bradford, aguardando 5 min (protegido da luz). Por fim, os resultados foram lidos em espectrofotômetro em comprimento de onda de 595 nm.

5.10 ANÁLISES DE MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO

Foram dosadas as enzimas antioxidantes: superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) e a não enzimática, glutationa reduzida (GSH) e o marcador de peroxidação lipídica - Malondialdeído (MDA), seguindo as técnicas padronizadas conforme pode ser observado na Figura 5.

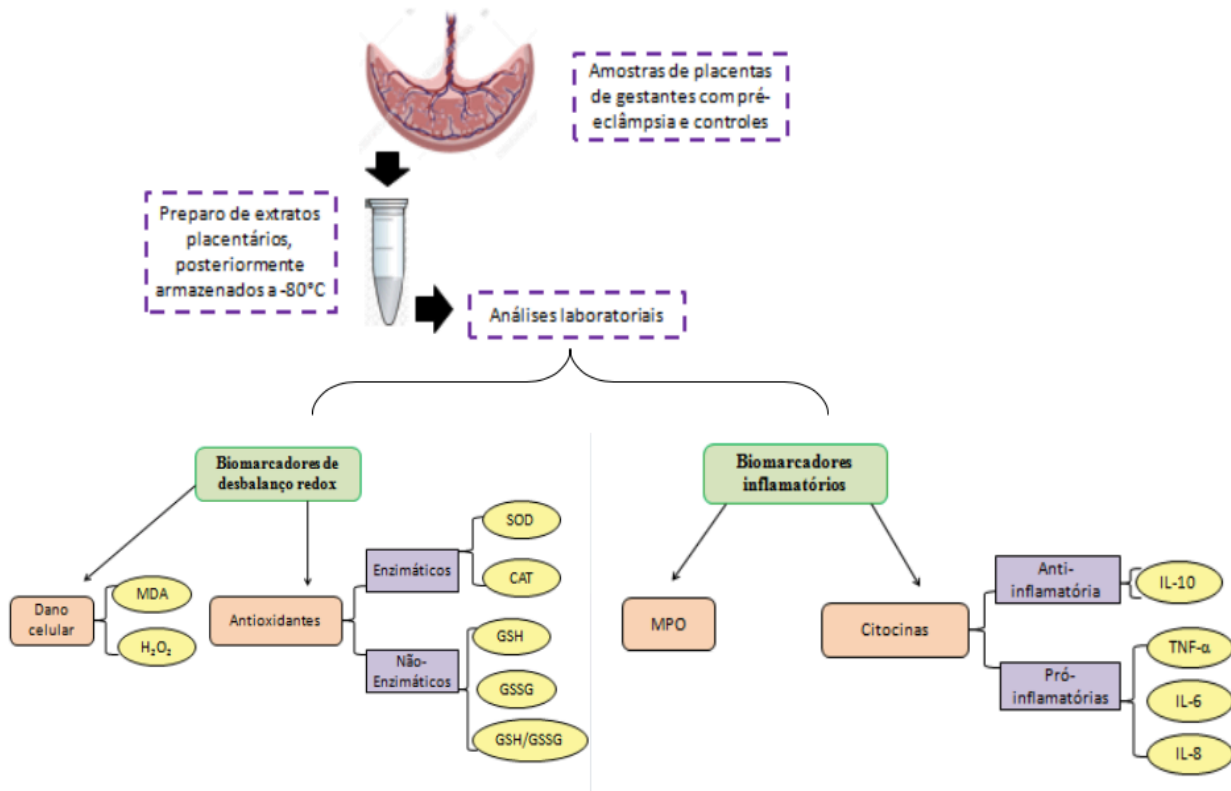


Figura 5: Fluxograma de obtenção e análise de biomarcadores de desbalanço redox e inflamatórios analisados.

Fonte: Autor

5.10.1 Dosagem de Catalase (CAT)

Realizada segundo método colorimétrico de Paton et al. (2009), descrito previamente por Aebi (1984). A mensuração da atividade de CAT foi realizada em microplaca, onde foram adicionados 7,5 µL do extrato placentário (diluição de 1:30, com tampão PBS 20 mM, pH 7,0). Em seguida, fez-se a leitura no espectrofotômetro em microplaca, no comprimento de onda 240 nm, a cada 15 segundos, durante 5 minutos, sendo o resultado considerado o branco. Para o início da reação, foram adicionados 5 µL de H₂O₂ (concentração final = 1 µmol/L), sendo realizado novamente a leitura. Os resultados foram expressos em U de CAT.mg. Uma unidade

de CAT foi considerada como a quantidade de enzima necessária para decompor 1 $\mu\text{mol}/\text{min}$ de H_2O_2 , a 37 °C.

Cálculo para a concentração de catalase:

$$\text{Catalase } U/\text{mg proteína} = \frac{2,361 \times 0,67 \times (\text{ABSi} - \text{ABSf})}{\text{ABSi} \times \text{mg de proteína}}$$

ABSi = Absorvância inicial;

ABSf = Absorvância final;

2,361= constante;

0,67 = fator de correção do método da cubeta em relação à placa, caminho óptico;

mg de proteína = quantidade de proteína (em mg) pipetada no poço.

5.10.2 Dosagem de superóxido dismutase (SOD)

A atividade da enzima SOD foi determinada no extrato placentário, em microplaca (Nunc®, Dinamarca), através da utilização de Kit SOD Assay – WST (sal monossódico de 2-(4-Iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-dissulfofenil)- 2H-tetrazólio) (#19160, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA), conforme instruções do fabricante, e quantificado espectrofotometricamente, no comprimento de onda de 450 nm (Leitora para microplacas Thermoplate®). O método é baseado na utilização de um sal solúvel em água, o WST-1 (o sal monossódico de 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)-2H tetrazolio), que é reduzido pelo ânion radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$). O produto desta reação é o cromógeno formazan. A taxa de redução é linearmente relacionada à atividade da enzima xantina oxidase (XO) que, por sua vez, é inibida pela SOD. A atividade da SOD é então expressa como porcentagem de inibição da XO pela SOD. Os dados são normalizados pelo conteúdo protéico tecidual (BRADFORD, 1976). A atividade da SOD foi expressa como percentual (%) de taxa de inibição. mg proteína^{-1} .

5.10.3 Dosagem de glutathiona reduzida (GSH)

O conteúdo de GSH total foi avaliado a partir da técnica descrita por Tipple & Rogers (2012), com algumas modificações. Inicialmente, a proteína total foi precipitada, após centrifugação de 40 μL do homogeneizado placentário com 80 μL de ácido metafosfórico 5% (m/v) e 80 μL tampão de ensaio (PBS 0,1 M + EDTA 5 mM, pH 7,4) na proporção de 1:2,5 (80:80:40) (1.400 rpm por 10 min a 4 °C). Na sequência, a GSH total foi medida. Para obter GSH total, o sobrenadante do

homogenato sem proteínas foi diluído (1:5) em tampão de ensaio. Em seguida, 30 μL foram transferidos para a microplaca de leitura. A reação foi então iniciada, adicionando-se 50 μL da mistura de reação 1 (5,5'-ditiobis-(ácido 2-nitrobenzoico) – DTNB – 10 mM e GR – 4,2 U mL^{-1}) e 50 μL da mistura de reação 2 (NADPH 1% m/v). A absorvância foi medida em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 412 nm, em uma cinética de 3 min, com leituras a cada 30 s. As concentrações foram então obtidas após comparação dos resultados obtidos com curva de calibração padrão com concentrações conhecidas de GSSG (1 nM a 10 nM). Para determinação da GSH, utilizou-se o seguinte cálculo: $\text{GSH} = \text{GSH total} - (2 \times \text{GSSG})$ (TIPPLE; ROGERS, 2012). Os resultados foram expressos em $\text{pmol.mg prote\u00edna}^{-1}$.

Para mensurar GSSG, o sobrenadante foi diluído (1:2) em tampão de ensaio, contendo N-etilmaleimida (NEM), e centrifugado (12.000 rpm/ 20 min a 4°C). Essa solução foi incubada por 50 min, para completar a complexação e remoção de GSH. Para excluir NEM, esse sobrenadante com tampão de ensaio foi eluído através dos cartuchos Sep-pak® Classic C18 (200 μL). Depois disso, o eluente foi transferido para a microplaca e foram adicionadas 50 μL da reação de mistura. Em ambas as análises, a absorvância foi mensurada ao longo de 3 min a 412 nm, com intervalos de 30 s.

5.10.4 Medidor da peroxidação lipídica: Malondialdeído (MDA)

O MDA é frequentemente utilizado como biomarcador padrão da peroxidação lipídica *in vivo*. Diversos métodos foram desenvolvidos para determinação por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) do MDA, em amostras biológicas. Neste estudo, foi adaptado o método descrito por Vickie et al. (1990) (VICKIE; CHANGCHIT; CHOW, 1990). Primeiramente foi realizada a curva padrão para MDA, utilizando como substrato o 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP). O TMP, em meio ácido, origina MDA, com o percentual aproximado de conversão de 98,4%. Para realização das análises de MDA, faz-se necessário a preparação de uma solução de butil-hidroxitolueno (BHT). Para isso, 4,0 mg de BHT são diluídos em 2 mL de etanol 96%, sendo então armazenados, sob refrigeração, por no máximo 7 dias.

Inicialmente, 50 μL do extrato da placenta centrifugado previamente foram transferidos para eppendorf previamente preparado com 400 μL de tampão Trizma-Base (pH 7,4) e 40 μL de solução antioxidante de BHT. Em seguida, foram

adicionados 440 µL de acetonitrila para realização de HPLC. A solução formada foi então centrifugada a 4 °C e 3500 rpm, por 10 min. O sobrenadante foi aspirado e filtrado através de unidade filtrante com membrana Durapore de 0,22 µm de poro e homogeneizado com auxílio de vórtex.

O volume de 20 µL do filtrado foi injetado no HPLC e a leitura realizada a 270 nm, com duração da leitura de 6 min, onde o tempo de retenção do MDA é em torno de 2 minutos e 48 s. Os valores de MDA foram avaliados a partir da curva padrão, utilizando 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP), que é um composto precursor de MDA. Os valores de MDA no tecido foram expressos em micromolar (µM) e corrigidos para o peso em miligrama (mg) do tecido analisado, obedecendo ao fator de correção de acordo com a formulação:

$$MDA \text{ tecidual real} = \frac{MDA \text{ encontrado } (\mu M) \times 1000}{\text{Peso do tecido (mg)}}$$

5.10.5 Dosagem de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

O peróxido de hidrogênio foi mensurado de acordo com Pick and Keisari (1980). O princípio da técnica consiste na oxidação do vermelho de fenol pelo H₂O₂, mediada pela peroxidase de rabanete. A concentração de H₂O₂ foi expressa em nmol mg de proteína⁻¹, de acordo com a curva de calibração previamente estabelecida. Inicialmente, os homogenatos foram adicionados em microtubos contendo tampão de ensaio (tampão fosfato, dextrose e NaCl (1:25) (pH 7,0). Em seguida, foram adicionados 5 µL de vermelho de fenol, 4,25 µL de peroxidase de rabanete. Após incubação (37 °C por 30 min), 25 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 1 M foram adicionados. As amostras foram lidas em 610 nm.

5.11 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE INFLAMATÓRIA

5.11.1 Mieloperoxidase (MPO)

A mensuração da atividade da MPO foi realizada por meio da adaptação do método proposto por Bradley et al. (1982). Resumidamente, 25 mg do tecido placentário foram homogeneizados, utilizando tampão de ensaio (tampão de fosfato de potássio - 50 mM, 0,5% de brometo de hexadeciltrimetilamônio e EDTA - 5 mM, pH 6,0). Em seguida, as soluções foram centrifugadas a 4.000 rpm, por 15 min, a 4 °C. Após essa etapa, o sobrenadante foi retirado e centrifugado novamente a 12.000

rpm, por 15 min, a 4 °C. Posteriormente, 50 µL do sobrenadante foram transferidos em duplicada para uma microplaca e adicionados 50 µL de solução de *orto*-dianisidina (0,68 mg/mL). A microplaca foi incubada a 37 °C por 15 min e em seguida, foram adicionados 50 µL de solução de H₂O₂ (0,3%). Uma nova incubação foi realizada (37 °C) e após 10 min, a leitura foi feita em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 460 nm. Uma unidade de MPO foi definida como a quantidade de H₂O₂ (em µmol) decomposta por minuto. Os resultados foram expressos em U de MPO mg de proteína⁻¹ (BRADLEY; CHRISTENSEN; ROTHSTEIN, 1982).

5.11.2 Marcadores inflamatórios

As dosagens das interleucinas (IL), IL-6, IL-8, IL-10 e do fator de necrose tumoral-alfa (TNF-α) foram analisadas por ELISA. O extrato placentário foi diluído inicialmente (1:1) com tampão PBS 50 mM, pH 7,4. Os níveis das citocinas foram dosados por ELISA, com kit da PeproTech® (PeproTech Brasil FUNPEC, Ribeirão Preto, SP, BR.), conforme as instruções do fabricante. As citocinas foram quantificadas através da leitura da absorvância a 450 nm, em leitor de placa de ELISA e os resultados foram expressos em pg mg de proteína⁻¹.

5.12 DADOS DO RECÉM-NASCIDO E PÓS-PARTO

Após o parto, foram coletados dados em prontuário sobre o recém-nascido e o parto. São eles: peso e comprimento ao nascer, idade gestacional no momento do parto, via de parto, índices de Apgar nos 1º e 5º minutos de vida, sexo da criança, além de possíveis intercorrências no pós-parto.

5.12.1 Peso e comprimento ao nascer

Os dados de peso e comprimento ao nascer dos conceptos foram classificados de acordo com as curvas propostas por Villar et al. (2014). Foram considerados os pontos de corte em percentis de acordo com os padrões internacionais, onde aqueles com peso abaixo do percentil 10 foram classificados como pequenos para a idade gestacional (PIG), entre os percentis 10 e 90 classificados como adequados para a idade gestacional (AIG) e os com peso

superior ao percentil 90, grandes para a idade gestacional (GIG), bem como para a classificação de comprimento ao nascer.

5.12.2 Perímetro cefálico e torácico

O perímetro cefálico associado ao perímetro torácico avalia o estado nutricional e estes devem ter proporção idêntica ($PT/PC=1$) até os 6 meses de vida (DAL BOSCO, 2010).

5.12.3 Idade gestacional no momento do parto

A idade gestacional foi classificada de acordo com os critérios propostos pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 1967), onde: recém-nascidos pré-termo- IG < 37 semanas, recém-nascidos a termo - IG entre 37 e 40 semanas, e recém-nascidos pós- termo - IG > 40 semanas.

5.12.4 Índices de Apgar nos 1º e 5º minutos de vida

A finalidade do índice de apgar (Aparência, Pulso, Grimace (careta), Atividade, Respiração) é determinar a situação de saúde do recém-nascido até o nascimento, sendo caracterizado como risco para o nascimento quando os valores do apgar são menores que 7, para ambos os minutos (AMERICAN ACADEMIC OF PEDIATRICS, 2006).

5.13 ANÁLISE DE DADOS

As análises dos dados foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SPSS (*Statistical Package for Social Science*) versão 20.0 e do GraphPad®Prism versão 5.0 para Windows (San Diego, CA, EUA), adotando um $\alpha = 5\%$. A normalidade da distribuição foi avaliada pela aplicação do teste de Lilliefors e a homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene. A partir desses procedimentos, foram utilizados métodos paramétricos como o teste t. O teste de Wilcoxon-Mann-Whitney foi utilizado para avaliar as variáveis não-paramétricas. Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão. Os resultados dos marcadores de desequilíbrio redox e inflamação foram relacionados às variáveis de resultado perinatal (peso, comprimento, CC, CC e idade gestacional ao nascer), via regressão linear, com ajustes das variáveis por idade gestacional, escolaridade, família renda,

peso ao nascer, peso atual, IMC gestacional, raça negra e tipo de parto. Adotou-se um nível de significância de 5%.

6 RESULTADOS

6.1 ARTIGO 1

O artigo foi aceito pela revista Archives of Biochemistry and Biophysics

BIOMARKERS OF PLACENTAL REDOX IMBALANCE IN PREGNANCIES WITH PREECLAMPSIA AND CONSEQUENT PERINATAL OUTCOMES

Short title: REDOX BIOMARKERS IN PREECLAMPTIC PLACENTAS

Authors:

Ferreira, Raphaela Costa¹
Fragoso, Marilene Brandão Tenório²
Tenório, Micaely Cristina dos Santos^{2,3}
Martins, Amylly Sanuely da Paz²
Borbely, Alexandre Urban¹
Moura, Fabiana Andréa^{3,4,5}
Goulart, Marília Oliveira Fonseca^{1,2}
Oliveira, Alane Cabral Menezes de^{3,4}

¹Pós-Graduação em Ciências da Saúde/Universidade Federal de Alagoas (ICBS/UFAL);

²Instituto de Química e Biotecnologia (IQB/UFAL); Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO).

³Pós-Graduação em Nutrição/Universidade Federal de Alagoas (FANUT/UFAL);

⁴Docente da Faculdade de Nutrição/ Universidade Federal de Alagoas (FANUT/UFAL);

⁵Pós-Graduação em Ciências Médicas/Universidade Federal de Alagoas (PPGCM/UFAL);

Corresponding author: Alane Cabral Menezes de Oliveira. Faculdade de Nutrição. Universidade Federal de Alagoas. Campus A. C. Simões, BR 104 Norte, Km 96,7, Tabuleiro dos Martins. CEP 57.072-970. Maceió, Alagoas, Brasil. Phone: (82) 3214-1160. E-mail: alanecabral@gmail.com.

Acknowledgments: The authors gratefully acknowledge the financial support of the Brazilian research funding agencies CNPq, CAPES/RENORBIO/PROAP, CAPES/PROCAD, INCT-Bioanalysis and FAPEAL (PPSUS/Decit/MS/CNPq/SESAU-AL/FAPEAL process 60030 000818/ 2016 for financial support.).

Abstract

Objective: To compare redox and inflammatory markers between normal and PE-derived placentas and to evaluate the relationship between placental redox imbalance markers and perinatal outcomes in pregnancies with PE. **Methods:** This was a cross-sectional study conducted at the maternity hospital of a university hospital in Maceio-Alagoas, Brazil, in 2017, including women diagnosed with PE and healthy pregnant women and their conceptuses. After screening, standardized questionnaires containing socioeconomic, clinical, obstetric and anthropometric data were applied. After delivery, placental samples were collected for quantification of biomarkers of redox imbalance (catalase – CAT; malondialdehyde – MDA; hydrogen peroxide – H₂O₂; superoxide dismutase – SOD; reduced glutathione – GSH; oxidized glutathione – GSSG; and their ratio – GSH/GSSG) and inflammation (myeloperoxidase – MPO; interleukin (IL)-6; IL-8; IL-10; and tumor necrosis factor-alpha – TNF- α). All biomarkers were evaluated via linear regression with adjustments of variables with measures of weight, length, head circumference (HC), chest circumference (CC) and gestational age of newborns at birth, considering $p < 0.05$ as significant. **Results:** A total of 100 pregnant women with PE and 50 healthy pregnant women were studied. Higher placental levels of catalase ($p = 0.018$), SOD ($p = 0.031$), the GSH/GSSG ratio ($p = 0.019$) and IL-6 ($p = 0.010$) and lower GSSG ($p = 0.001$) were observed in pregnant women with PE than in the control group. Positive associations between placental GSH levels and body weight, HC, CC and gestational age at birth ($p < 0.05$) were identified. **Conclusion:** PE-derived placentas had high concentrations of some antioxidants (enzymes and thiols), which might be a compensation mechanism against oxidative stress. Placental GSH levels were the only biomarker, among the studied ones, related positively with beneficial perinatal outcomes, suggesting that this endogenous antioxidant plays an important role in maintaining the health of the conceptus and women with PE.

Keywords: Oxidative stress; Antioxidant; Reduced glutathione; Perinatal care; Pregnancy.

Introduction

Despite advances in the management of preeclampsia (PE), it is still considered one of the main causes of maternal and fetal mortality, affecting 5-8% of pregnancies worldwide, and is more prevalent in developing countries [1].

The genesis of the disease includes defective placentation; cardiovascular dysfunction in pregnancy; and immunological, hormonal and angiogenic alterations, which lead to local inflammation and oxidative stress [2-7]. Such events are key to understanding poor invasion and inefficient uterine spiral artery remodeling by extravillous trophoblast cells aggravated by hypoxia [8-10]. This hypoxia/reoxygenation process compromises the supply of oxygenated blood to the fetus-placental unit and could lead to adverse perinatal outcomes, such as intrauterine growth restriction (IUGR), placental rupture, premature labor, low birth weight newborn, small for gestational age (SGA), maternal and fetal/neonatal death, among others [11-13].

In this context, aiming to better understand the pathogenesis of PE, inflammatory and redox imbalance markers have been investigated [14-18]. On the other hand, despite knowing the importance of the placenta in fetal nutrition and its relationship with perinatal outcomes, to our knowledge, there is a dearth of studies that correlate inflammation and redox imbalance biomarkers in preeclamptic placentas with perinatal outcomes [19].

The present study was carried out on the placenta, so this study is able to provide a real and comprehensive view of the local biochemical activity at the time of delivery, and the possible changes in the placental structure and function may directly affect the newborn and its development. Thus, the aims of the present study were to compare the biomarkers of redox imbalance and inflammation in the placentas of pregnant women with and without PE and to investigate the relationship between redox imbalance and perinatal outcomes in PE pregnancies.

Material and methods

Chemicals

The SOD Assay kit was from Sigma – WST ®. Cytokine kits were obtained from PeptoTech® (PeptoTech Brasil FUNPEC, Ribeirão Preto, SP, BR), protease inhibitor cocktail tablets were obtained from Roche® (Germany), and radioimmunoprecipitation assay (RIPA) buffer was obtained from Cell Signaling®. All other chemicals and enzymes were purchased from Sigma-Aldrich® (St. Louis, USA).

Equipment

The high-performance liquid chromatography – HPLC (LC-20 AT-Prominence-Shimadzu). Coupled to UV detection (Shimadzu, Serial no. L201550), the freezer was a VIP Series by Sanyo, the spectrofluorometer was manufactured by Thermo Scientific® (Multiskan) and a Filizola® digital balance with a capacity of 150 kg and 100 g accuracy and a stadiometer with 2 m in length and 0.1 cm precision were used.

Study design

This is a cross-sectional study conducted at the maternity hospital of the University Hospital Alberto Antunes of Maceio-Alagoas, Brazil, in 2017, and was part of a larger research project supported by the Research Program for the Brazilian Unified Health System (SUS) and approved by the Ethics and Research Committee (process number 35743614.1.0000.5013).

Study group

Pregnant women diagnosed with PE were included and identified through medical records, based on the recommendations of the American College of Gynecology and Obstetrics (ACOG, 2013) [20], with the requirements adjusted according to Brown et al., 2018 [21]. More specifically, PE was diagnosed by the presence of hypertension after 20 weeks' gestation, accompanied by proteinuria and/or evidence of maternal acute kidney injury (AKI), liver dysfunction, neurological features, hemolysis or thrombocytopenia, or fetal growth restriction. Those women with HELLP syndrome (H- hemolysis, EL- elevated liver and LP- low platelet count), eclampsia, in severe general conditions, according to medical records, smokers, with a deficiency in mobility, with twin pregnancies or other comorbidities that could influence gestational outcomes, such as gestational diabetes, cardiovascular, autoimmune, and infectious diseases, among others, were not included. For the control group, we selected healthy pregnant women, also meeting the exclusion criteria, being excluded pregnant women who smoke, with mobility difficulties, with multiple pregnancies or with other comorbidities, which could influence pregnancy outcomes. The present study included 100 pregnant women diagnosed with PE and 50 healthy pregnant women (without PE), as well as their conceptuses.

The medical record and the live birth statement of newborn information for each patient and information such as the values of birth weight and length, gestational age at delivery, type of delivery, Apgar score values at the 1st and 5th

minutes of life, sex of the child, head circumference (HC) and chest circumference (CC) were collected. Initially, screening was performed at the hospital's maternity ward through an electronic medical record to check pregnant women who met the previously defined requirements. Afterwards, properly trained researchers went to the maternal beds and, after invitation and acceptance by the pregnant woman to participate in the research, a standardized questionnaire was applied, including socioeconomic data (maternal age, maternal education and monthly family income) and obstetric data (gestational age, complications during pregnancy, previous pregnancies, among others).

According to the socioeconomic data, pregnant women were stratified into maternal age (≤ 19 years: adolescent; 20 to 34 years: average age; and ≥ 35 years: advanced age) [22], education (< 4 years; ≥ 4 years of schooling) [23], and monthly family income (< 1 minimum wage; ≥ 1 minimum wage) and self-declared black race (yes or no).

Placental samples

After delivery, samples from placentas were collected immediately or just after 20 minutes of delivery, kept refrigerated until arrival at the Laboratory of Electrochemistry and immediately transferred to a biofreezer, at -80°C . The samples were prepared and assayed for redox imbalance and inflammation biomarker quantification, following validated protocols [24-26]. The placenta samples were collected near the maternal basal plate where terminal villi are more abundant, excluding stem villi. Figure 1 represents the flow chart used in the preparation and analyses of samples. After transportation, samples were stored in a freezer at -80°C . In sequence, the homogenates, from the crude initial material, were prepared using RIPA and protease inhibitor (pH 7.4) (approximately 100 mg of tissue with the volume of RIPA 9x the weight of the tissue). After centrifugation, the supernatant was collected, placental extracts were stored in appropriate volumes for sequential analysis. This protocol was used for the majority of analyses (A), except for MDA and MPO (B) (Figure 1). The time between collection and analyses was maximum of 6 months.

FIGURE 1: HEREABOUTS

Oxidative stress biomarkers

The following biomarkers of redox imbalance were analyzed: superoxide dismutase (SOD), using the SOD Assay kit (Nunc®, Denmark), according to the manufacturer's information and read at 450 nm in spectrophotometer, expressed in mg protein^{-1} ; hydrogen peroxide (H_2O_2), according to Pick and Keisari (1980) [27]. In summary, for H_2O_2 , the technique is based on the oxidation of phenol red by H_2O_2 , mediated by radish peroxidase. H_2O_2 concentration was expressed in $\text{nmol mg protein}^{-1}$ and measured according to a previously built calibration curve. First, the extracts were added in microtubes containing assay buffer (phosphate buffer, dextrose and NaCl (1:25) (pH 7.0), then 5 μL phenol red, 4.25 μL of radish peroxidase. After incubation (37 °C for 30 min), sodium hydroxide (NaOH, 1 M) was added. The samples were read at 610 nm.

Catalase (CAT), according to the colorimetric method of Paton et al. (2009) [28], previously described by Aebi (1984) [29] was measured as the decomposition rate of H_2O_2 , and was monitored at 240 nm. One unit of CAT was considered the amount of enzyme required to degrade 1 $\text{mmol min}^{-1} \text{H}_2\text{O}_2$. It was expressed in IU mg protein^{-1} ; reduced glutathione (GSH) and oxidized glutathione (GSSG) were determined according to Tipple and Rogers [30], using assay buffer and metaphosphoric acid, with slight modifications, and their ratio (GSH/GSSG) was calculated (Total glutathione = GSH – (2 x GSSG). GSH and GSSH levels were expressed in $\text{nM mg protein}^{-1}$.

All biomarkers were measured using spectrofluorometry, with wavelengths specified for each method and normalized by placental protein levels determined by the Bradford assay [31].

Malondialdehyde (MDA) was measured by HPLC, according to Vickie et al. (1990) [32], through peak height measurement. The conditions of the HPLC system were column C18, 259 mm long and 4.6 mm internal diameter, the mobile phase comprising acetonitrile and Trizma buffer (pH 7.4) (1:9). Placental tissues were homogenized with Trizma buffer, butyl-hydroxytoluene (BHT) and acetonitrile (see Figure 1, protocol B). Finally, the homogenates were centrifuged at 3500 rpm/10 min at 4 °C and the supernatant was filtered with an HPLC filter (0.22 μm). The flow rate was 1.0 mL min^{-1} and MDA was calculated from the standard curve generated using 1,1,3,3-tetramethoxypropane and expressed as $\text{nmol MDA mg tissue}^{-1}$. The retention time was approximately 2 min and 48s and the UV detector was set at 270 nm.

Inflammation biomarkers

IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α were evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with a PeproTech® kit (PeproTech Brasil FUNPEC, Ribeirão Preto, SP, BR.), according to the manufacturer's instructions. Cytokines levels were expressed in pg mg ptn⁻¹ (Figure 1, protocol A).

MPO activity was obtained by adapting the method proposed by Bradley et al. (1982) [33], evaluated by ELISA, with a PeproTech® kit (PeproTech Brasil FUNPEC, Ribeirão Preto, SP, BR.), according to the manufacturer's instructions [34]. Placental tissues were prepared following protocol B (Figure 1). They were homogenized using assay buffer pH 6.0 and centrifuged at 4000 rpm/15 min (4°C). The supernatant was collected and centrifuged at 12,000 rpm/15 min (4°C). Samples were transferred (in duplicate) to the microplate and an *ortho*-dianisidine solution (0.8 mg mL⁻¹) was added. After incubation (37 °C/15 min), a solution of H₂O₂ (0.3%) was added. A new incubation was performed (37 °C/10 min) and read at 460 nm. MPO levels were expressed in U.mg protein⁻¹. One unit of MPO was defined as the amount that decomposes 1 μ mol H₂O₂.

Characterization of newborns

For the characterization of newborns, weight and length variables at birth were classified, according to Villar et al. (2014) [34], considering the percentile cut-off points, where those weighing below the 10th percentile were classified as SGA, between the 10th and 90th percentiles as suitable for gestational age (SUGA), and those weighing more than 90th percentile as large for gestational age (LGA). The same framework was used for classification of birth length. CC was associated with HC generating the CC/HC ratio, aiming to assess the nutritional status of the newborn, where they should have an identical proportion (CC/HC = 1) up to 6 months of age [35]. Additionally, the condition of the newborn at birth was assessed using the Apgar Index at the 1st and 5th minute of life in which values < 7, for both minutes, characterize low vitality for the newborn [36].

Maternal nutritional status

To assess maternal nutritional status, measurements of weight and height of the pregnant women were collected and used to calculate body mass index (BMI= weight/height²), considering the cut-off points established by Atalah et al., 1997 [37].

Statistical analysis

Data analysis was performed using the statistical software Stata version 13.0 and GraphPad® Prism version 5.0 for Windows (San Diego, CA, USA), adopting $\alpha=0.05$. For statistical analysis, parametric assumptions of normality (Lilliefors test) and homogeneity of residual variances (Levene test) were considered. From these procedures, the Wilcoxon-Mann-Whitney test and the t test were performed. The results of the markers of redox imbalance and inflammation were related to the perinatal outcome variables (weight, length, HC, CC and gestational age at birth) in their continuous forms via linear regression with adjustments of the variables by gestational age, education, family income, birth weight, current weight, gestational BMI, black race and mode of delivery, considering $p < 0.05$ as significant.

Results

We included 100 pregnant women with PE with a mean age of 24.20 ± 6.53 years. Regarding the socioeconomic, obstetric and nutritional data of pregnant women with PE and controls (Table 1), approximately half of them were at the extremes of reproductive age (26% teenagers and 13.0% ≥ 35 years *versus* 32% teenagers and 6% ≥ 35 years; 24.2% *versus* 26.7% were low income; 3% *versus* 4% of them had low education; 8.3% *versus* 14% reported being black and half of them *versus* 42% were primiparous and the majority (59.1%) *versus* 45.6% had excess weight when comparing pregnant women with PE and healthy pregnant women. The average gestational week of delivery was 37.9 ± 1.77 weeks in PE group and the average diagnosis of PE was at 34.6 ± 4.53 weeks.

Regarding the characterization of newborns of pregnant women with PE (Table 2), 70.4% of them were born by cesarean section, 22.4% were premature, 11.5% were classified as SGA *versus* 13.5% LGA, 8.6% had low vitality in the first minute of life, and 73% had an inadequate CC/HC ratio.

Figures 2 and 3 correspond to the means and standard error of the mean of the placental values of the markers of redox imbalance and inflammation, respectively (Table 3). The preeclamptic placentas presented higher activities of the antioxidant enzymes CAT and SOD and the GSH/GSSG ratio and a decrease in GSSG ($p < 0.05$) (Fig. 1), as well as higher levels of IL-6 ($p = 0.010$) (Fig. 2), when compared to healthy pregnant women. The other results were not significantly different.

Table 4 shows the results regarding the associations between markers of redox imbalance and inflammation in women with PE, with perinatal variables, where suggested positive associations between placental GSH levels with weight ($p = 0.04$), CC ($p < 0.001$), HC ($p = 0.03$) and gestational age at birth ($p = 0.04$) were obtained.

Discussion

The present study provides an enlarged view of the oxidative status of the placenta of pregnant women with PE, as it sought to examine a range of stress markers of enzymatic and nonenzymatic nature, in addition to tissue damage, where it was seen that pregnant women with PE had higher levels of placental antioxidant enzymes, such as SOD and CAT, and the GSH/GSSG ratio, as well as a decrease in GSSG, when compared with pregnant women without the disease.

In the literature, changes in placental development are observed due to a defect in the remodeling of the uterine spiral arteries by extravillous trophoblasts, leading to a decrease in placental perfusion. Consequently, intermittent arterial blood flow generates repeated episodes of ischemia/reperfusion, creating an environment favorable to the development of placental oxidative stress, reaffirming the importance of adequate trophoblastic invasion for the complete remodeling of the uterine spiral arteries, which consequently guarantees the supply of oxygenated blood to the placental fetus unit [38,39]. In addition, a systemic inflammatory response occurs through a higher production of proinflammatory cytokines, which are fundamental characteristics in the pathogenesis of PE. Among the described changes related to oxidative stress, studies have shown higher levels of MDA [24,26,40,41] and a reduction in CAT [24] and SOD in the placenta of pregnant women with PE [26,42,43].

It is worth mentioning that data available in the literature indicate that oxidative stress has been widely studied in several other gestational diseases, such as miscarriage [44], placenta accrete [45], gestational diabetes mellitus [46], in addition to hypothyroidism [47], with findings that point to the presence of redox imbalance in the above conditions in favor of oxidants, with simultaneous reduction of antioxidants levels.

These findings differ from our results, since we observed an improvement in antioxidant defense with increased enzymatic defense (SOD and CAT), as well as

nonenzymatic defense (reduction in GSSG and increase in the GSH/GSSG ratio), without identifying changes in the levels of H₂O₂ or cellular damage through MDA measurement. Therefore, the assembly of these results suggests a placental protective mechanism.

Regarding antioxidants, SOD is one of the main antioxidant enzymes responsible for the dismutation of the superoxide radical anion (O₂^{•-}) to H₂O₂. As herein reported, an increase in SOD was observed in the placentas of pregnant women with PE. However, it should be noted that the increase in SOD may not be a positive fact, as its high concentrations may also indicate that a large quantity of O₂^{•-} was formed and as a result of its dismutation, H₂O₂ would be generated, which consequently increased the SOD requirement.

Thus, SOD is needed in physiological or pathological situations, as is the case of PE [17,41]. As such, its analysis *per se* should be regarded with caution. The placenta consists of an active oxygen metabolic site that continuously generates oxidative stress. In PE, the repeated hypoxia/reperfusion process would lead to an increase in H₂O₂ [48,49]. In the present case, it did not occur, most likely due to the antioxidant system, which is effective at neutralizing it.

Therefore, the increase in SOD is suggested to be an antioxidant response, since our findings also identified the increase in CAT, one of the enzymes that converts H₂O₂ into water, preventing its conversion to the harmful, lipid membrane oxidant hydroxyl radical. However, when analyzing the damage to the membrane, we observed that the levels of MDA were similar between PE and controls. Apparently, there was no increase in nitro-oxidative damage.

Another possibility for maintaining normal H₂O₂ levels would be the increase in GPx activity, an enzyme that is able to catalyze the reduction of H₂O₂ and organic hydroperoxides to water and alcohols, respectively, with the generation of GSSG [50]. Although not directly assessed, its requirement was probably not necessary, since GSSG levels were not high in pregnant women with PE, as shown in Figure 2, which culminated in a higher GSH/GSSG ratio. The increase in this ratio in favor of GSH reinforces that the levels of reactive species in the placentas of pregnant women with PE were not sufficient to modify the ratio of reduced/oxidized forms of glutathione, with GSH at higher levels, providing endogenous antioxidant protection. On the other hand, high levels of GSSG would reflect a greater need for

neutralization of H₂O₂ in the tissue, different from what was observed in the present study [51].

A comparative study of antioxidant levels in the placenta of pregnant women with PE and controls was performed. Some studies have evaluated placental SOD levels, such as those by Vanderlelie et al. [42] and Mutlu-Torkogiu et al.[43] with pregnant women from Australia and Turkey, respectively, who noted a placental decrease in SOD levels in PE compared to normotensive pregnant women. Regarding CAT levels in the placenta of pregnant women with PE, Wang et al. (1996) [52] observed that the activity of CAT was significantly higher in PE than in controls, corroborating our findings. In turn, Brahmarsi et al.[53], in India, reported no change in the placental or serum levels of GSH in women with PE. Jim et al. [54] reported that the low level of GSH and the high level of GSSG in placental tissues are fundamental to the redox imbalance in favor of prooxidants and, therefore, contribute to the development of PE.

It is worth mentioning that the redox imbalance (in favor of oxidants) can be exacerbated by the presence of inflammation in the placenta of women with PE and vice versa, and in this situation, the syncytium presents greater apoptosis/necrosis activity, releasing a large amount of material syncytia, antiangiogenic factors and debris into the maternal circulation. All these molecules cause activation of systemic leukocytes, generating stimuli for greater platelet adhesion, vasoconstriction and generalized inflammatory response. This inflammatory response is mainly mediated by proinflammatory cytokines such as TNF- α and IL-6 [15,55].

It should also be noted that some studies show elevations in inflammatory markers, such as IL-6. This multifunctional cytokine acts directly in reducing the availability of NO^{*} and promoting a reduction in endothelium-dependent vasodilation. Therefore, it increases the process of endothelial dysfunction by decreasing the concentration of NO^{*} and increasing endothelin [56,57], as well as the cytokine that is known to activate endothelial cells and induce the production of necrotic trophoblastic debris from the placenta, which may be important in the pathogenesis of PE [58].

The present study, therefore, suggests a potential compensation mechanism that protects the newborn of a mother with PE from the stress process experienced in pregnancy, which seems to have an evolutionary advantage in protecting the fetus exposed to oxidative damage during labor. Although not directly related to the

placenta but indirectly related to the health of the fetus, the study by Silberstein et al.[56] reported a significant decrease (approximately 20%) in lipid peroxidation levels (MDA) in the colostrum of women who had PE compared with the control group and an increase in polyphenol concentrations (approximately 33%), an important antioxidant, highlighting a possible compensatory effect where the body activates the defense system, which can be a physiological organic adaptation to prioritize and protect the child.

In addition to the abovementioned results, it was proposed to identify whether the analyzed biomarkers could positively or negatively influence perinatal results.

As observed in Table 4, the placental levels of the antioxidant GSH showed a positive influence on the perinatal outcomes of PE pregnancies, such as birth weight, HC and CC, suggesting better obstetric results related to these neonatal indicators.

It is interesting to note that the present investigation is the first in the literature to make associations between the levels of GSH in the placenta of pregnant women with PE and the perinatal results, providing a comprehensive view about the effect of redox imbalance markers in placentas affected by PE and its possible repercussions on fetal health.

Although the literature presents previous studies that found an association between oxidative stress markers and perinatal results, these were observed in blood and urine, as shown by Bharadwaj et al. [57], in India. They found that early neonatal outcomes such as death, IUGR, respiratory distress syndrome and early onset sepsis had a significant correlation with the protein carbonyl levels of pregnant women with PE; however, they did not find a correlation of neonatal results with the antioxidant status and MDA levels. Hsieh et al. [58], in Taiwan, observed significantly higher 8-isoprostane levels in plasma (which is also an oxidative damage marker) in women who developed PE ($p = 0.008$) and small-for-gestational age infants ($p = 0.002$). Thus, although the markers evaluated in the mentioned studies were different from those described herein, it is observed in the literature that a relationship between redox imbalance markers and perinatal results may exist.

Thus, the role of GSH in perinatal results is highlighted, since this molecule is an excellent nonenzymatic endogenous antioxidant [58,59] that is responsible for the biotransformation and elimination of xenobiotics and in the defense of cells against oxidative stress, which play central roles in PE pathology [60].

Evidence suggests that GSH plays important roles in many different organs, such as the lungs (defending the airspace epithelium from damage in response to oxidants and inflammation) [61], liver (cellular signaling regulator) [60] and especially in embryological development, during fertilization and implantation [62].

Additionally, the perinatal outcomes of low birth weight and prematurity, indirectly assessed in this study by weight and gestational age at birth, are among the main perinatal outcomes related to the presence of PE, where reduced placental blood flow, hypoxia and increased ROS are pathognomonic and closely linked [63]. Positive associations between GSH and measurements of HC and CC at birth were found in this study, where approximately 2/3 of the children evaluated presented an altered CC/HC ratio at birth.

Thus, the present results reinforce the need for further studies in this direction and, if confirmed, may prove the importance of the use of drugs, nutrients and/or nutraceuticals able to increase GSH levels and hence improve fetal health at birth.

Therefore, the knowledge already established regarding the involvement of GSH in various biological processes clearly demonstrates that the physiological and therapeutic roles of GSH are not yet finalized. Advances in GSH analysis techniques and compounds that increase its levels may reveal many opportunities for the development of therapeutic interventions for the treatment of PE. However, we must consider that other markers with more specific action need to be evaluated in future studies, especially with regard to transcription factors such as NF κ B (nuclear-factor kappa-light chain of B cells) and Nrf2 (Nuclear factor erythroid derived 2-like 2), which act in the regulation of several cellular functions and activation of genes involved in the regulation of inflammatory and anti-inflammatory processes, respectively [64,65].

It is also important to note that our study used placental samples only from the maternal basal face, which can be a potential limitation, but this region was chosen because it contains the terminal villi, where exchanges between mother and fetus occur. Therefore, despite this limitation, it is not able to weaken the results thus far observed.

Conclusions

The present study revealed that the placentas of pregnant women with PE, in comparison with controls, had high concentrations of some antioxidant enzymes,

which might be a compensation mechanism that protects the fetus from oxidative stress processes.

As an additional highlight, it was found that placental GSH was the only biomarker related positively with different perinatal outcomes, suggesting that this endogenous antioxidant plays an important role in maintaining the health of the conceptus and the women with PE.

Our findings highlight the importance of continuous research on the role of GSH as a protector molecule for perinatal outcomes, and once established, therapeutic interventions using drugs, nutrients and/or nutraceuticals able to increase GSH levels can be proposed.

References

- [1] A. Jeyabala, Epidemiology of preeclampsia: Impact of obesity, *Nutr Rev.* 71 (2013) 18–25. <https://doi.org/10.1111/nure.12055>.
- [2] D.A. Shah, R.A. Khalil, Bioactive Factors in Uteroplacental and Systemic Circulation Link Placental Ischemia to Generalized Vascular Dysfunction in Hypertensive Pregnancy and Preeclampsia, *Biochem Pharmacol.* 15 (2015) 211-26. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.04.012>.
- [3] C.W.G. Redman, A.C. Staff, Preeclampsia, biomarkers, syncytiotrophoblast stress, and placental capacity, *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* 213 (2015) 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.08.003>.
- [4] J. Uzan, M. Carbonnel, O Piconne, Pre-eclampsia: pathophysiology, diagnosis, and management, *Vascular Health and Risk Management.* 7 (2011) 467-474. <https://doi.org/10.2147/VHRM.S20181>.
- [5] L.C. Sánchez-Aranguren, C.E. Prada, C.E. Riaño-Medina, M. Lopez, Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress, *Frontiers in Physiology.* 5 (2014) 1-11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00372>.
- [6] F. Wu, F.J. Tian, Y. Lin, Oxidative stress in placenta: health and diseases, *BioMed Research International.* 2015 (2015) 1-15. <https://doi.org/10.1155/2015/293271>.
- [7] A.P. Bouças, B.M. de Souza, A.C. Bauer, D. Crispim, Role of innate immunity in preeclampsia: A systematic review, *Reproductive Sciences.* 4 (2017) 1362–1370. <https://doi.org/10.1177/1933719117691144>.
- [8] L. Mirković, L. Nejković, J. Micić, A new pathophysiological concept and new classification of pre-eclampsia, *Vojnosanitetski pregled.* 75 (2018) 83-94. <https://doi.org/10.2298/VSP1604212301M>.
- [9] J.M. Roberts, C. Escudero, The placenta in preeclampsia, *Pregnancy Hypertens.* 2 (2012) 72-83. <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2012.01.001>.
- [10] I. Torres-Cuevas, A. Parra-Llorca, A. Sánchez-Illana, A. Nunez-Ramiro, J. Kuligowski, C. Chafer-Pericas, M. Cernada, J. Escobar, M. Vento, Oxygen and oxidative stress in the perinatal period, *Redox Biology.* 12 (2017) 674-681. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.03.011>.
- [11] I.A. Belyaeva, L.S. Namazova-Baranova, E.P. Bombardirova, M.V. Okuneva, Nutritional and Hormonal Status of Premature Infants Born with Intrauterine

- Growth Restriction at the Term Corrected Age, *Vestn Ross Akad Med Nauk.* 71 (2016) 436-445. <https://doi.org/10.15690/vramn730>.
- [12] M.Y. Hadush, A.H. Berhe, A.A. Medhanyie, Foot length, chest and head circumference measurements in detection of Low birth weight neonates in Mekelle, Ethiopia: a hospital based cross sectional study, *BMC Pediatr.* 17 (2017) 1-8. <https://doi.org/10.1186/s12887-017-0866-0>.
- [13] B. Sharda, Free radicals: emerging challenge in environmental health research in childhood and neonatal disorders, *Int J Environ Res Public Health.* 3 (2006) 286–291. <https://doi.org/10.3390/ijerph2006030035>.
- [14] M. Shen, G.N. Smith, M. Rodger, R.R. White, M.C. Walker, W.S. Wen, Comparison of risk factors and outcomes of gestational hypertension and preeclampsia, *PloS one.* 12 (2017) 1-13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175914>.
- [15] R. Aggarwal, A.K. Jain, P. Mittal, M. Kohli, P. Jawanjal, G. Rath, Association of pro- and anti-inflammatory cytokines in preeclampsia, *J Clin Lab Anal.* 33 (2019) 1-10. <https://doi.org/10.1002/jcla.22834>.
- [16] L. Rocha-Penha, H. Bettioli, M.A. Barbieri, C.R. Cardoso, R.C. Cavalli, V.C. Sandrim, Myeloperoxidase is not a good biomarker for preeclampsia prediction, *Scientific reports.* 7 (2017) 1-6. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09272-4>.
- [17] N. İlhan, M. Simsek, The changes of trace elements, malondialdehyde levels and superoxide dismutase activities in pregnancy with or without preeclampsia, *Clinical Biochemistry.* 35 (2002) 393–397. [https://doi.org/10.1016/s0009-9120\(02\)00336-3](https://doi.org/10.1016/s0009-9120(02)00336-3).
- [18] A. Taravati, F. Tohidi, Comprehensive analysis of oxidative stress markers and antioxidants status in preeclampsia, *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology.* 57 (2018) 779-790. <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2018.10.002>.
- [19] S. Zeterog ĩu, Y. Ustu ĩn, Y.E. Ustu ĩn, Placental and cord malondialdehyde and maternal and perinatal outcomes, *Int J Gynaecol Obstet.* 85 (2004) 47-49. <https://doi.org/10.1590/1980-549720200004>.
- [20] American College of Obstetricians and Gynecologists, Task Force on Hypertension in Pregnancy, ACOG Hypertension in Pregnancy Task Force, Washington, DC: American College of Obstetricians and Gynecologists, *Obstet Gynecol.* 122 (2013) 1122-1131. <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000437382.03963.88>.

- [21] M.A. Brown, L.A. Magee, L.C. Kenny, S.A. Karumanchi, F.P. McCarthy, S. Saito, D.R. Hall, C.E. Warren, G. Adoyi, S. Ishaku, Hypertensive Disorders of Pregnancy ISSHP Classification, Diagnosis, and Management Recommendations for International Practice. *Hypertension*. 72 (2018) 24-43. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.10803>.
- [22] J.L.C.P. Silva, F.G.C. Surita, Maternal Age: Perinatal Outcomes and Birth Routes, *Brazilian Journal of Gynecology and Obstetrics*. 31 (2009) 321-325.
- [23] Scliar-Cabral L, Reviewing the “functional illiterate” category, *Revista Crear Mundos*. 3 (2003) 1-5.
- [24] A.S. Sahay, D.P. Sundrani, G.N. Wagh, S.S. Mehendale, S.R. Joshi, Regional differences in the placental levels of oxidative stress markers in pre-eclampsia, *Int J Gynaecol Obstet*. 129 (2015) 213-218. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2015.03.001>.
- [25] T.H. Hung, J.N. Skepper, G.J. Burton, In Vitro Ischemia-Reperfusion Injury in Term Human Placenta as a Model for Oxidative Stress in Pathological Pregnancies, *American Journal of Pathology*. 159 (2001) 1031-1043. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)61778-6](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)61778-6).
- [26] N. Rani, R. Dhingra, D.S. Arya, M. Kalaivani, N. Bhatla, R. Kumar, Role of oxidative stress markers and antioxidants in the placenta of preeclamptic patients, *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 36 (2010) 1189-1194. <https://doi.org/10.1111/j.1447-0756.2010.01303.x>.
- [27] E. Pick, Y. Keisari, A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture, *Journal of Immunological Methods*. 38 (1980) 161–170. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(80\)90340-3](https://doi.org/10.1016/0022-1759(80)90340-3).
- [28] L.N. Paton, T.J. Mocatta, A.M. Richards, C.C. Winterbourn, Increased thrombin-induced polymerization of fibrinogen associated with high protein carbonyl levels in plasma from patients post myocardial infarction, *Free Radical Biology and Medicine*. 48 (2009) 223- 229. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.10.044>.
- [29] H. Aebi, Catalase in vitro, *Methods Enzymol*. 105 (1984) 121-126. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3).
- [30] T.E. Tipple, L.K. Rogers, Methods for the determination of plasma or tissue glutathione levels, *Methods in Molecular Biology*. 889 (2012) 315-324. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-867-2_20.

- [31] M.M. Bradford, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*. 7 (1976) 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>.
- [32] L.T. Vickie, C. Charus, K.C. Ching, Measurement of malondialdehyde by high performance liquid chromatography with fluorescence detection, *Lipids*. 25 (1990) 226–229. <https://doi.org/10.1177/000456329102800514>.
- [33] P.P. Bradley, D.A. Priebat, R.D. Christensen, G. Rothstein, Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker, *J Invest Dermatol*. 78 (1982) 206-209. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12506462>.
- [34] J. Villar, L.C. Ismail, C.G. Victora, E.O. Ohuma, E. Bertino, D.G. Altman, A. Lambert, A.T. Papageorghiou, M. Carvalho, Y.A. Jaffer, M.G. Gravett, M. Purwar, I.O. Frederick, A.J. Noble, R. Pang, F.C. Barros, C. Chumlea, Z.A. Bhutta, S.H. Kennedy, International Fetal and Newborn Growth Consortium for the 21st Century (INTERGROWTH-21st). International standards for newborns weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborns Cross-Sectional Study of the INTERGROWTH-21st Project, *The Lancet*. 384 (2014) 857-68. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60932-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60932-6).
- [35] S.M. Dal Bosco, *Nutritional Therapy in Pediatrics*, 1st ed. Atheneu Editor (2010) 416p. ISBN: 9788538801405.
- [36] The American Academy of Pediatrics. The Apgar Score. *Pediatrics* 136 (2015) 819-824. <https://doi.org/10.1542/peds.2015-2651>.
- [37] E. Atalah Samur, L.C. Castillo, R.C. Santoro, P.A. Aldea, Propuesta de un nuevo estándar de evaluación nutricional en embarazadas / Proposal of a new standard for the nutritional assessment of pregnant women, *Ver. Méd. Chile*. 125 (1997) 1429-1436.
- [38] J. Pollheimer, S. Vondra, J. Baltayeva, A.G. Beristain, M. Knöfler, Regulation of Placental Extravillous Trophoblasts by the Maternal Uterine Environment, *Frontiers in immunology*. 9 (2018) 1-18. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02597>.
- [39] L. Ding, S. Li, Y. Zhang, J. Gai, J. Kou, MXRA5 is decreased in preeclampsia and affects trophoblast cell invasion through the MAPK pathway, *Mol Cell Endocrinol*. 461 (2018) 248-255. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.09.020>.
- [40] Y.W. Kim, T.V. Byzova, Oxidative stress in angiogenesis and vascular disease, *Blood*. 123 (2014) 625-631. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-09-512749>.

- [41] R. Madazli, A. Benian, S. Aydin, H. Uzun, N. Tolun, The plasma and placental levels of malondialdehyde, glutathione and superoxide dismutase in pre-eclampsia, *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 22 (2002) 477–480. <https://doi.org/10.1080/0144361021000003573>.
- [42] J. Vanderlelie, K. Venardos, V.L. Clifton, N.M. Gude, A.V. Perkins, Increased biological oxidation and reduced anti-oxidant enzyme activity in pre-eclamptic placentae, *Placenta*. 26 (2005) 53-58. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2004.04.002>.
- [43] U. Mutlu-türkoglu, E. Ademoglu, L. Ibrahimoglu, G. Aykaç-Toker, M. Uysal, Imbalance between lipid peroxidation and antioxidant status in preeclampsia, *Gynecol Obstet Invest*. 46 (1998) 37-40. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2004.04.002>.
- [44] O.B. Yiyenog˘lu, M.G. Ug˘ur, H.Ç. O˘zcan, G. Can, E. O˘zturk, O˘. Balat, O˘. Erel, Assessment of oxidative stress markers in recurrent pregnancy loss: a prospective study, *Arch Gynecol Obstet* (online). 2013 (2013) 1-4. <https://doi.org/10.1007/s00404-013-3113-4>.
- [45] E. Öztaş, S. Özler, M. Ergin, Ö. Erel, B.G. Güler, A.T. Çağlar, A.Yücel, D.Uygur, N. Danişman, Decreased oxidative stress may contribute to the disease process in placenta accrete, *Turkish Journal of Medical Sciences*. 47 (2017) 1180-1184. <https://doi.org/10.3906/sag-1605-141>.
- [46] H. Rueangdetnarong, R. Sekararithi, T. Jaiwongkam, S.Kumfu, N. Chattipakorn, T. Tongsong, P.Jatavan, Comparisons of the oxidative stress biomarkers levels in gestational diabetes mellitus (GDM) and non-GDM among Thai population: cohort study, *Endocrine Connections*. 7 (2018) 681–687. <https://doi.org/10.1530/EC-18-0093>.
- [47] T.R. Novakovic, Z.C. Dolicanin, N.Z. Djordjevic, Oxidative stress biomarkers in amniotic fluid of pregnant women with hypothyroidism, *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. (2017) 1-6. <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1400005>.
- [48] T. Hung, G.J. Burton, Hypoxia and reoxygenation: a possible mechanism for placental oxidative stress in preeclampsia, *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 45 (2006) 189-200. [https://doi.org/10.1016/S1028-4559\(09\)60224-2](https://doi.org/10.1016/S1028-4559(09)60224-2).
- [49] A. Yildirim, K. Altinkaynak, H. Aksoy, Y.N. Sahin, F. Akcay, Plasma xanthine oxidase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities and uric acid

levels in severe and mild pre-eclampsia, *Cell Biochemistry and Function*. 22 (2004) 213–217. <https://doi.org/10.1002/cbf.1090>.

[50] J.D. Hayes, L.I. McLellan, Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress, *Free Radical Research*. 31 (1999) 273-300. <https://doi.org/10.1080/10715769900300851>.

[51] D. Giustarini, D. Tsikas, G. Colombo, A. Milzani, I. Dalle-Donne, P. Fanti, R. Rossi, Pitfalls in the analysis of the physiological antioxidant glutathione (GSH) and its disulfide (GSSG) in biological samples: An elephant in the room, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 1019 (2016) 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.02.015>.

[52] Y. Wang, S.W. Walsh, Antioxidant activities and mRNA expression of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in normal and preeclamptic placentas, *J Soc Gynecol Investig*. 3 (1996) 179-184.

[53] D. Brahmarsi, S.R. Santa, D.G. Anindya, K.L. Tapan, N.D. Harendra, Assessment of Placental Oxidative Stress in Pre-Eclampsia, *J Obstet Gynaecol India*. 62 (2012) 39–42. <https://doi.org/10.1007/s13224-012-0150-z>.

[54] B. Jim, S.A. Karumanchi, Preeclampsia: Pathogenesis, Prevention, and Long-Term Complications, *Semin Nephrol*. 37 (2017) 386-397. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2017.05.011>.

[55] S. Saito, Cytokine network at the feto-maternal interface, *J Reprod Immunol*. 47 (2000) 87-103. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2017.05.011>.

[56] T. Silberstein, B. Hamou, S. Cervil, T. Barak, A. Burg, O. Saphie, Colostrum of Preeclamptic Women Has a High Level of Polyphenols and Better Resistance to Oxidative Stress in Comparison to That of Healthy Women, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019 (2019) 1-5. <https://doi.org/10.1155/2019/1380605>.

[57] S. Bharadwaj, V.B. Bhat, V. Vickneswaran, B. Adhisivam, B. Zachariah, S. Habeebullah, Oxidative stress in preeclamptic mother–newborn dyads and its correlation with early neonatal outcome—a case control study, *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 31 (2018) 1548-1553. <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1319933>.

[58] T.T. Hsieh, S.F. Chen, L.M. Lo, M.J. Li, Y.L. Yeh, T.H. Hung, The Association Between Maternal Oxidative Stress at Mid-Gestation and Subsequent Pregnancy

Complications, *Reproductive Sciences*. 19 (2012) 505-512. <https://doi.org/10.1177/1933719111426601>.

[59] P.C. Huber, W.P. Almeida, Glutathione and related enzymes: biological role and importance in pathological processes, *Quim. Nova*. 31 (2008) 1170-1179. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000500046>.

[60] H.J. Forman, H. Zhang, A. Rinna, Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis, *Molecular Aspects of Medicine*. 30 (2009) 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.08.006>.

[61] S.K. Biswas, I. Rahman, Environmental toxicity, redox signaling and lung inflammation: the role of glutathione, *Molecular aspects of medicine*. 30 (2009) 60-76. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.07.001>.

[62] J.M. Hansen, C. Harris, Glutathione during embryonic development, *Biochimica*. 1850 (2015) 1527-1542. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.12.001>.

[63] B.W.J. Mol, C.T. Roberts, S. Thangaratinam, L.A. Magee, C.J.M. de Groot, G.J. Hofmeyr, Pre-eclampsia, *Lancet*. 38 (2016) 999-1011. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00070-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00070-7).

[64] L. Yu, T. Wanga, R. Que, J. Yang, Z. Wang, X. Jiang, L. Wang, The potentially protective role of ATP-binding cassette transporters in preeclampsia via Nrf2, *Pregnancy Hypertension*. 18 (2019) 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2019.08.002>.

[65] B. Armistead, L. Kadam, S. Drewlo, H. Kohan-Ghadr, The Role of NFκB in Healthy and Preeclamptic Placenta: Trophoblasts in the Spotlight, *International Journal of Molecular Sciences*. 21 (2020) 1-13. <https://doi.org/10.3390/ijms21051775>.

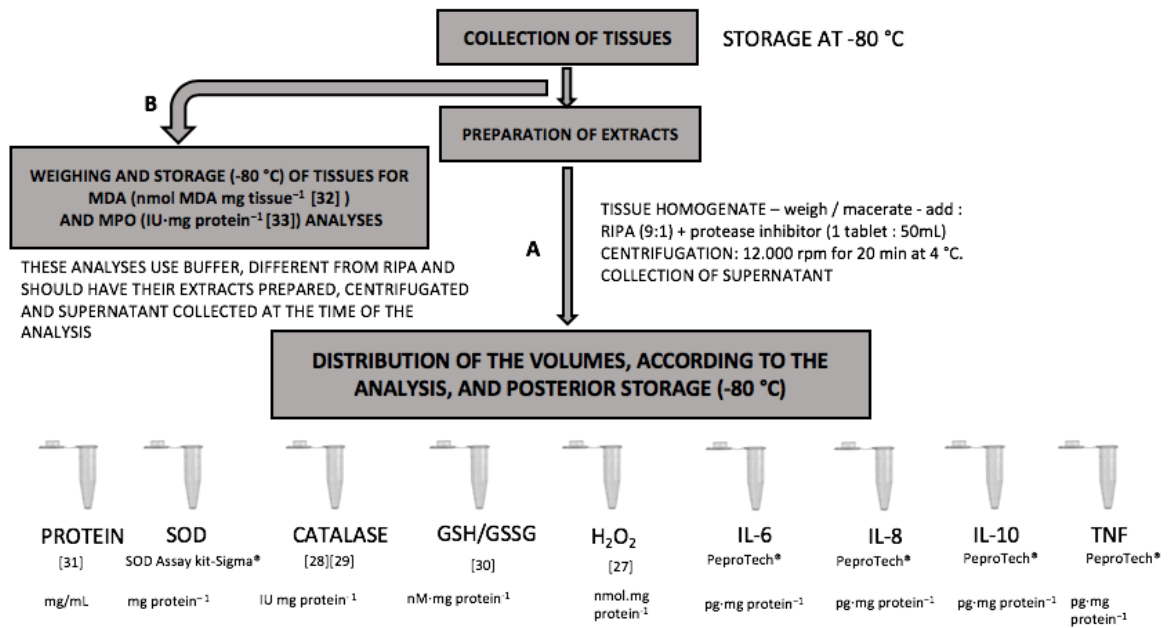


Figure 1. Flowchart representing the steps of collection, preparation and analyses of placentas.

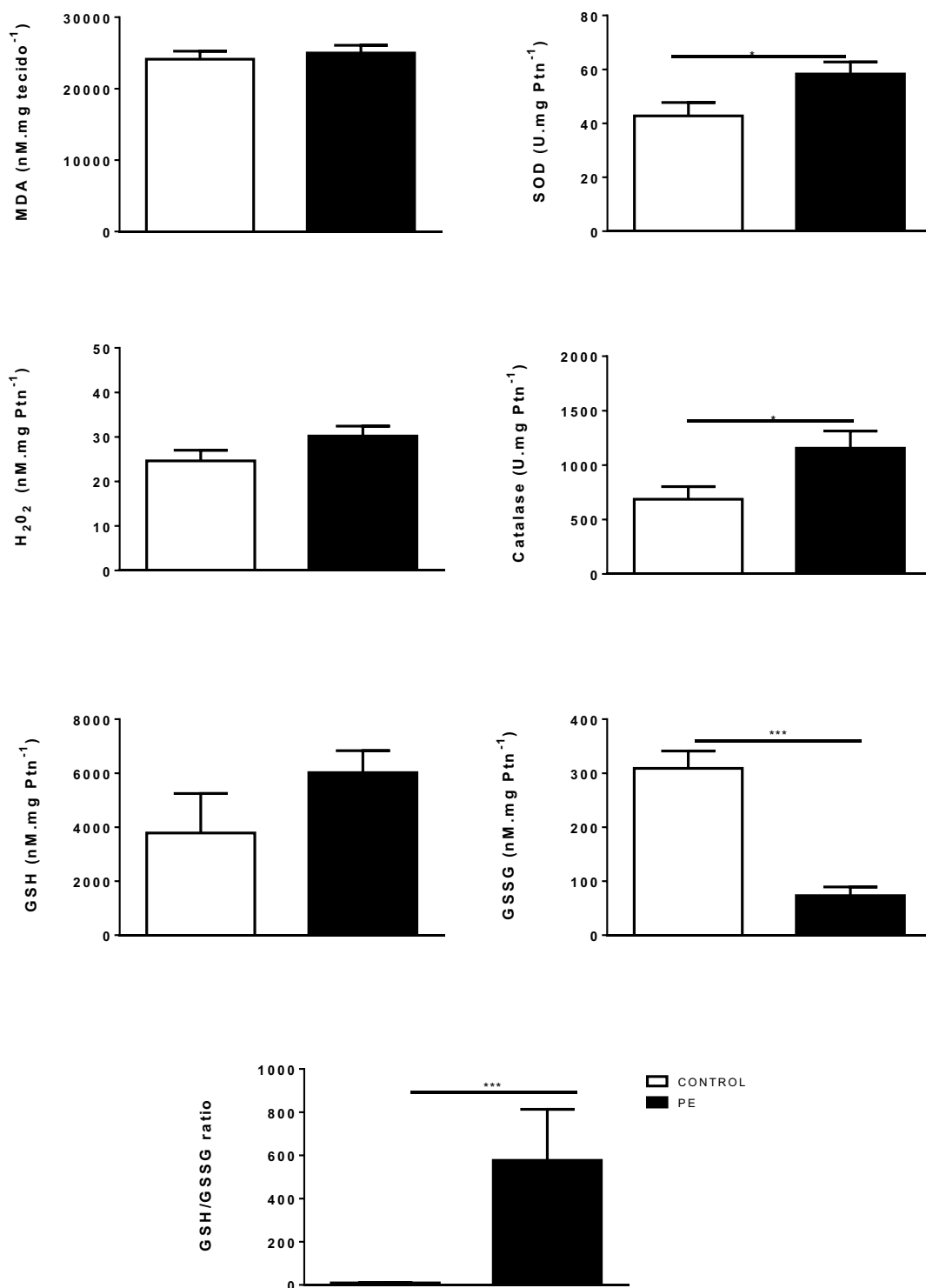


Figure 2: Comparison of redox imbalance markers' levels in placenta of pregnancies with preeclampsia and controls in a university hospital in Maceio-AL, Brazil, 2017. Legend: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$. Results expressed as mean \pm SE.

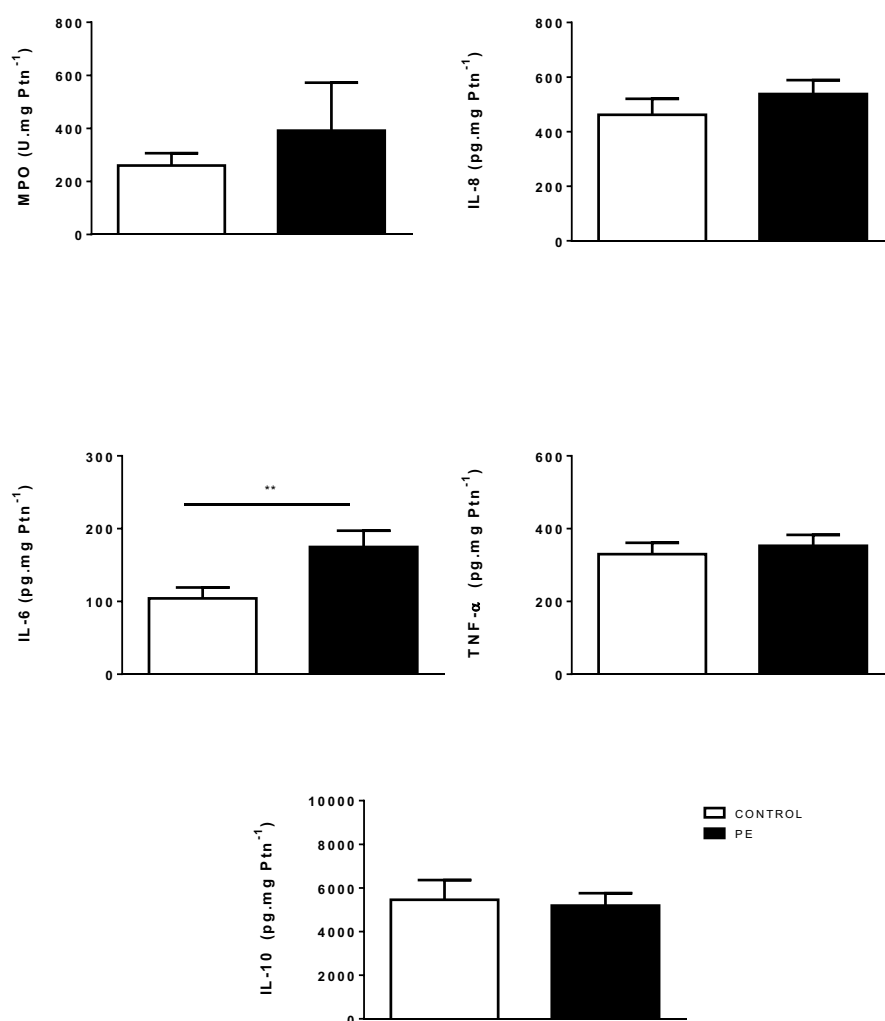


Figure 3: Comparison of inflammatory markers' levels in pregnant women with preeclampsia and controls in a university hospital in Maceio-AL, Brazil, 2017.

Legend: * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; *** = $p < 0.001$. Results expressed as mean \pm SE. * = $p < 0.05$.

Table 1. Characterization of pregnancies with preeclampsia and controls in a university hospital in Maceio-AL, Brazil 2017.

Variable	PE n=100	Control n=50	χ^2	OR	IC95%	p
Age						
≤19 years	26 (26.0)	16 (32.0)	0.595	0.747	0.355- 1.570	0.447
20-35 years	61 (61.1)	31 (62.0)	0.052	1.084	0.542- 2.168	0.850
≥35 years	13 (13.0)	3 (6.0)	1.714	2.341	0.635- 8.629	0.265
Black Race						
Yes	8 (8.3)	7 (14)	1.333	0.534	0.182- 1.568	0.260
No	88 (91.7)	43 (86)				
No information	4	0				
Education						
<4 years	3 (3.0)	2 (4.0)	0.103	0.742	0.120- 4.529	0.999
≥4 years	97 (97.0)	48 (96.0)				
Income						
< 1 MW	23 (24.2)	12 (26.7)	0.098	0.878	0.391- 1.976	0.835
≥1 MW	72 (75.8)	33 (73.3)				
No information	5	5				
Primigravid						
Yes	50 (50.0)	21 (42.0)	0.856	1.381	0.696- 2.739	0.389
No	50 (50.0)	29 (58.0)				
Gestational BMI						
Low weight	6 (6.5)	8 (17.4)	3.694	0.345	0.112- 1.060	0.074
Eutrophy	32 (34.4)	17 (37.0)	0.014	0.957	0.461- 1.985	0.999
Overweight	25 (26.9)	12 (26.1)	0.058	1.103	0.497- 2.450	0.843
Obesity	30 (32.2)	9 (19.5)	2.887	2.063	0.886- 5.989	0.113
No information	7	4				

OR: Odds ratio. χ^2 : Chi-square test, $p < 0,05$ has significance. BMI: Body Mass Index. MW: Minimum Wage. PE: Pre-eclampsia.

Table 2: Characterization of newborns from pregnancies with preeclampsia in a university hospital in Maceio-AL, Brazil, 2017.

Variables	PE n=100		Variables	PE n=100	
	n	%		n	%
Sex			Length at birth		
Men	52	52.5	Low	8	9.0
Women	47	47.5	Adequate	67	75.3
No information	1		High	14	15.7
Mode of Delivery			No information	11	
Cesarean	69	70.4	Apgar 1° minute		
Normal	29	29.6	≤6	8	8.6
No information	2		≥7	85	91.4
Gestational age at birth			No information	7	
Preterm	22	22.4	Apgar 5° minute		
Term	76	77.6	≤6	1	1.1
Post term	0	0.0	≥7	92	98.9
No information	2		No information	7	
Birth weight			CC/ HC Ratio		
SGA	11	11.5	Adequate	24	27.0
SUGA	72	75.0	Inadequate	65	73.0
LGA	13	13.5	No information	11	
No information	4				

CC: chest circumference; HC: head circumference; LGA: large for gestational age; SGA: small for gestational age; SUGA: suitable for gestational age.

Table 3. Comparison of levels of redox and inflammatory imbalance markers in pregnancies with preeclampsia and controls in a university hospital in Maceio-AL, Brazil, 2017.

Redox and inflammatory imbalance markers	PE Concentration (mean and SE)	Control Concentration (mean and SE)	<i>p</i>
MDA (nmolMDA/mg tissue ⁻¹)	25003.33±10549.45	24268.46±7981.56	0.649
SOD (mg.protein ⁻¹)	58.30±43.58	42.77±35.26	0.031
H₂O₂ (nmol.mg protein ⁻¹)	30.19 ± 22.40	24.62±16.87	0.126
CAT (IU mg protein ⁻¹)	1155.33±1333.44	686.54±721.37	0.018
GSH (nM·mg protein ⁻¹)	6126.33 ± 7829.75	3583.99±8362.12	0.077
GSSG (nM·mg protein ⁻¹)	73.19 ± 133.96	308.90±223.71	0.001
GSH/GSSG (nM mg mg.protein ⁻¹)	576.92±1963.08	9.44±13.66	0.019
MPO (IU.mg.protein ⁻¹)	47.39 ± 35.20	35.20± 26.33	0.117
IL-8 (pg. mg.protein ⁻¹)	537.81±505.70	461.68±411.51	0.363

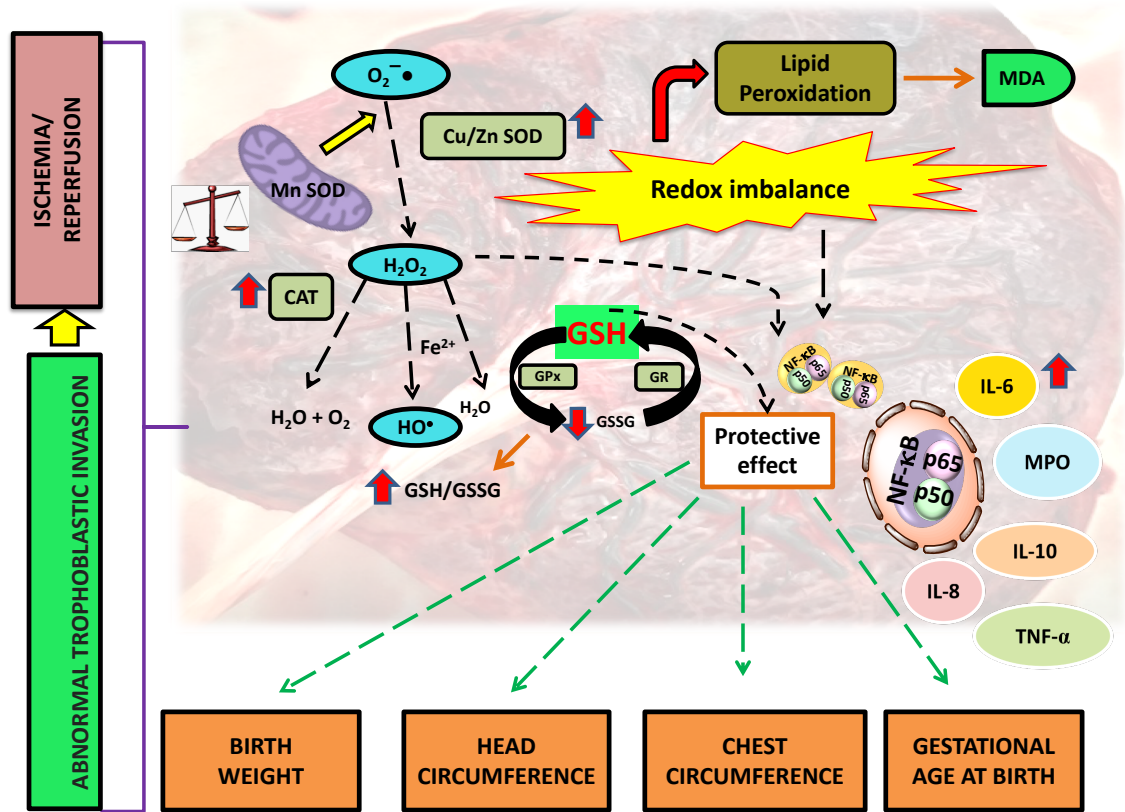
IL-6 (pg. mg.protein⁻¹)	174.82±217.48	104.12±107.01	0.010
TNF-α (pg. mg.protein⁻¹)	353.02±298.53	330.02±208.02	0.644
IL-10 (pg. mg.protein⁻¹)	5191.92±5647.64	5459.24±6048.43	0.798



Table 4. Association between placental markers of redox imbalance and inflammation, with perinatal outcomes of pregnancies with preeclampsia in a university hospital in Maceio-AL, Brazil, 2017.

Redox and inflammatory imbalance markers	Birth weight(g)			Length at birth (cm)			Head circumference (cm)			Thoracic perimeter (cm)			Gestational age (weeks)		
	<i>B*</i>	<i>IC</i>	<i>p</i>	<i>B*</i>	<i>IC</i>	<i>P</i>	<i>B*</i>	<i>IC</i>	<i>p</i>	<i>B*</i>	<i>IC</i>	<i>p</i>	<i>B*</i>	<i>IC</i>	<i>p</i>
MDA	0.01	-0.01-0.03	0.35	0.00	-0.00-0.00	0.97	-0.00	-0.00-0.00	0.87	0.00	-0.00-0.00	0.68	0.00	-0.00-0.00	0.79
SOD	4.11	-3.29-11.52	0.27	-0.00	-0.03-0.02	0.83	-0.00	-0.01-0.01	0.95	0.01	-0.01-0.03	0.34	0.00	-0.01-0.01	0.89
H₂O₂	4.81	-8.51-18.15	0.47	-0.01	-0.07-0.04	0.58	-0.02	-0.05-0.01	0.18	-0,01	-0.06-0.03	0.49	-0.00	-0.03-0.02	0.78
CAT	-0.02	-0.42-0.37	0.90	-0.00	-0.00-0.00	0.19	-0.00	-0.00-0.00	0.28	-0,00	-0.00-0.00	0.46	-0.00	-0.00-0.00	0.31
GSH	0.05	0,00-0,10	0.04	0.00	-0.00-0.00	0.18	0.00	-0.00-0.00	0.03	0.00	0.00-0.00	0.00	0.00	-0.00-0.00	0.04
GSSG	0.79	-1.84-3.44	0.54	0.00	-0.00-0.00	0.92	-0.00	-0.00-0.00	0.23	-0.00	-0.01-0.00	0.88	0.00	-0.00-0.00	0.92
GSH/GSSG	0.07	-0.09-0.24	0.37	0.00	-0.00-0.00	0.37	0.00	-0.00- 0.00	0.64	-0.00	-0.00- 0.00	0.74	0.00	-0.00-0.00	0.57
MPO	2.47	-6.10-11.05	0.56	-0.00	-0.04-0.032	0.77	-0.00	-0.02-0.01	0.44	-0.00	-0.00-0.00	0.83	0.00	-0.01-0.02	0.70
IL-6	0.46	-0.77-1.70	0.46	-0.00	-0.00-0.00	0.92	-0.00	-0.00-0.00	0.24	-0.00	-0.00-0.00	0.60	0.00	0.00-0.00	0.37
TNF-α	0.18	-0.50-0.86	0.59	-0.00	-0.00-0.00	0.96	-0.00	-0.00-0.00	0.93	-0.00	-0.00-0.00	0.60	-0.00	-0.00-0.00	0.98
IL-8	0.05	-0.317-0.428	0.76	-0.00	-0.00-0.00	0.80	-0.00	-0.00-0.00	0.71	-0.00	-0.00-0.00	0.90	-0.00	-0.00-0.00	0.21
IL-10	0.01	-0.00- 0.03	0.08	0.00	-3.21-0.00	0.05	0.00	-0.00-0.00	0.33	0.00	-0.00-0.00	0.28	0.00	-0.00-0.00	0.13

Legend: CAT: catalase; GSH: reduced glutathione; GSSG: oxidized glutathione; H₂O₂: hydrogen peroxide; IL: interleukin; MDA: malondialdehyde; MPO: myeloperoxidase; SOD: superoxide dismutase; TNF: tumor necrosis factor. Linear regression, p <0.05. Adjusted for maternal variables of age, education, family income, first birth, gestational body mass index (BMI), black race and mode of delivery.

Graphical abstract



LEGEND	
$O_2^{\cdot-}$	Radical anion superoxide
GSH	Reduced glutathione
GPx	Glutathione peroxidase
GR	Glutathione reductase
GSSG	Oxidized glutathione
Cu/Zn SOD	Copper and zinc superoxide dismutase
Mn SOD	Manganese superoxide dismutase
MDA	Malondialdehyde
IL	Interleucin
MPO	Myeloperoxidase
TNF- α	Tumor necrosis factor alpha
NF- κ B	Nuclear factor kappa b
LEGEND	
Mitochondria 	Cell nucleus 

Legend: After a period of ischemia / reperfusion, in the presence of oxygen, several reactive species are produced, such as the superoxide and hydroxyl radicals, hydrogen peroxide and peroxynitrite, which in turn

demand greater production of the enzymatic antioxidant defense, represented by the enzymes superoxide dismutase and catalase, as well as by non-enzymatic ones, through the action of glutathione. It was shown that PE-derived placentas had higher concentrations of some antioxidants (enzymes and thiols), which might come from a compensation mechanism against oxidative stress. Placental GSH levels related positively with beneficial perinatal outcomes (body weight, head circumference, chest circumference and gestational age of newborns at birth).

6.2 ARTIGO 2 – O artigo foi aceito pela Revista Placenta

Oxidative stress markers in preeclamptic placentas: a systematic review with meta-analysis

Authors:

Ferreira, Raphaela Costa¹; Fragoso, Marilene Brandão Tenório²; Bueno, Nassib Bezerra³,
Goulart, Marília Oliveira Fonseca^{1,2,4}; de Oliveira, Alane Cabral Menezes³

¹Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas (ICBS/UFAL);

² Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO/ UFAL);

³Faculdade de Nutrição (FANUT/UFAL);

⁴Instituto de Química e Biotecnologia (IQB/UFAL).

Corresponding author: Alane Cabral Menezes de Oliveira. Faculdade de Nutrição. Universidade Federal de Alagoas. Campus A. C. Simões, BR 104 Norte, Km 96,7, Tabuleiro dos Martins. CEP 57.072-970. Maceió, Alagoas, Brasil. Phone: (82) 99153-5740. Email: alanecabral@gmail.com.

Highlights

Biomarkers of oxidative stress are related to RONS damage to macromolecules and antioxidants.

Lower activity of SOD and GPx in preeclamptic placentas compared with normal ones.

MDA levels of preeclamptic placentas elevated compared to normal ones.

Lipid peroxide levels of preeclamptic placentas elevated compared to normal ones.

ABSTRACT

Introduction: Oxidative stress (OS) is the basis of several diseases. Preeclampsia (PE) is a multisystemic syndrome, considered one of the major causes of maternal and fetal mortality. The placenta is considered the main anatomical pathogenetic substrate for the disease, being the placental OS a likely critical pathway in the pathogenesis of PE. This meta-analysis aimed to verify whether there is OS in the preeclamptic placenta and which markers are altered in this condition. **Methods:** The search was conducted in the following databases: MEDLINE (via PubMed), Lilacs and Scopus. Relevant studies were identified until May 2020. The quality of the studies was evaluated according to the Newcastle-Ottawa scale. **Results:** From the 3998 screened records, 43 were finally included in the systematic review, and 23 in the meta-analysis. The biomarkers evaluated were related to cell and macromolecules' damage, such as malondialdehyde (MDA), 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OH-dG), lipid peroxides, isoprostane, total oxidant status (TOS), carbonylated proteins and some of the reactive oxygen and nitrogen species (RONS), like hydrogen peroxide and nitric oxide. It was also related to antioxidant activity, both enzymatic, including superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GPx), glutathione S-transferase and total antioxidant status, and non-enzymatic, through quantification of reduced glutathione, vitamin C and E, zinc and copper. **Conclusion:** It was observed that there was OS in the preeclamptic placentas, based on results, like lower activity of some of the enzymes of the antioxidant system (SOD and GPx) as well as the increase in oxidative damage markers (MDA and lipid peroxide), corroborating literature data.

Keywords: Pregnant Women, Preeclampsia, Biomarkers.

INTRODUCTION

Despite advances in the management of preeclampsia (PE), this disease is still considered a major cause of maternal and fetal mortality, affecting 3-12% of pregnant women worldwide. PE contributes to the high rate of maternal mortality; thus, it is relevant to know the pathophysiological mechanisms related to the triggering or progression of the disease, considering that its etiology is not yet fully understood [1-3].

Multiple factors are known to be involved in PE pathophysiology, including inflammation, defective placentation, dysbiosis; advanced glycation end products; cardiovascular maladaptation to pregnancy, genetic, immunological, hormonal malfunction, angiogenic mechanisms, and increased redox imbalance [4-8].

The placenta is considered the main anatomical pathogenetic substrate for PE and plays a crucial role in understanding adverse fetal outcomes [9,10]. Defective placentation is due to a malfunction in the remodeling of the uterine spiral artery, which induces hypoxia in the placental tissue releasing cytokines and reactive oxygen species (ROS) that induce systemic maternal endothelial dysfunction and excessive inflammatory response [11,12]. There is some evidence that this hypoxia may generate an increase in reactive oxygen and nitrogen species (RONS), which leads to oxidative stress (OS). OS is broadly referred to as an imbalance, in favor of the oxidants, between the generation of RONS and their clearance by antioxidants, leading to a disruption of redox signaling, control, and molecular damage. [13].

RONS can induce modifications in almost all of the biomolecules, occurring in the body. Some of these modified macromolecules can behave as biomarkers of the disease [13]. A biomarker consists of an indicator of normal or pathogenic biological processes and can be useful for establishing diagnosis and prognosis, the most suitable for each situation being the one that presents a correlation with the pathophysiology of interest. Knowing that there is an increase in OS in PE, the dosage of such markers can help in the appropriate management of the disease. Therefore, an OS biomarker is a molecule that undergoes modification in its structure and function from the action of RONS [14,15].

OS is managed mainly with antioxidants. As such, antioxidant enzymes are analyzed as biomarkers of OS, such as catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx), which may be increased or decreased, depending on the organic response [16,17]. Although there is a meta-analysis carried out in the literature by Taravati et al. (2018) [18] who found, at the blood level, a reduction in antioxidant capacity and an increase in the levels of OS products in PE, there is, hitherto, to the best of our knowledge, no study

available that has systematically evaluated or carried out a meta-analysis with such markers at the placental level. Furthermore, studies about this topic show conflicting results, reinforcing the importance of the present investigation. Studies on the placenta are relevant once they would provide a real and comprehensive view of the local biochemical activity, at the time of delivery, and the possible changes in the placental structure and function, which may directly affect the newborn and its development [11,16].

This systematic review aimed to determine whether there is OS in the preeclamptic placenta, and which biomarkers are altered in this situation. Hence, it would help to clarify the pathophysiology of PE at the placental level and to support the design of interventional clinical trials contributing to the appropriate management of the disease.

MATERIALS AND METHODS

The present meta-analysis is reported following the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analysis (PRISMA) Statement. The search, data extraction, and assessment of methodological quality were conducted by two researchers independently. Any disagreements were solved by consensus.

Search strategy and selection of studies

The search was conducted until May 12, 2020, in the following databases: MEDLINE (via PubMed), Lilacs, and Scopus. The following keywords were used: ((pre eclampsia) OR (preeclampsia) OR (pregnan* toxem*) OR (eph complex) OR (eph toxem*) OR (preeclampsia eclampsia 1)) AND ((malondialdehyde OR peroxide OR hydroxyl OR Peroxynitrite OR protein carbonyl OR nitric oxide OR uric acid OR oxidation OR oxidative stress OR antioxidant OR antioxidant enzyme OR total antioxidant capacity OR catalase OR glutathione peroxidase OR superoxide dismutase OR glutathione OR glutathione reductase OR vitamin E OR vitamin C)). All records retrieved had their titles and abstracts evaluated. Besides, no year of publication filter was used. Then, titles were evaluated for the removal of duplicate papers.

The following eligibility criteria were used: a) studies measuring at least one biomarker of OS or antioxidants in the placenta of preeclamptic and healthy pregnant women and b) studies that provided sample size, means, and standard deviations for both groups. Clinical trials with supplementation and studies published as reviews, conference abstracts, case reports, and editorial letters were excluded.

Later, abstracts were read, being excluded those in a language other than English, Portuguese, or Spanish. Full-texts of potentially relevant papers were retrieved for further assessment. Finally, included papers were divided according to the OS biomarkers and nature of antioxidants.

Data extraction

The following data from the papers were extracted by two authors: type of study, sample size, age of the pregnant women (mean and standard deviations), the concentrations of antioxidants, and OS biomarkers in preeclamptic placentas and healthy placentas (mean and standard deviations).

The software GetData Graph digitizer (GetData®; Germany) was used to extract data from papers that presented the results only in graphics.

Assessment of methodological quality

The quality of the studies was evaluated according to the Newcastle-Ottawa Scale. This scale is an easy-to-use tool for assessing the quality of non-randomized studies. The evaluation consists of three broad domains: selection, comparability, and the determination of the exposure or result of interest, depending on the type of study [19].

Statistical analysis

Meta-analysis was carried out among the included studies, pooling together those with similar characteristics, concerning the type of biomarker assessed, as well as the units of measurement used for quantification. Pooled standardized mean differences (SMD) between groups were calculated for each outcome, using the inverse variance method and a random-effects model of DerSimonian and Laird. SMD was used because the studies used different scales to assess the outcomes. Heterogeneity was assessed using the Cochran Q test and the I^2 statistic. All analysis was conducted using the *metan* package of Stata v 13.0 (StataCorp, College Station, TX, USA).

RESULTS

Search results

From the 3998 screened records, 43 were finally included in the systematic review, and 23 in the meta-analysis (Figure 1).

Studies characteristics

Table 1 lists the main characteristics extracted from the included studies. Studies with cross-sectional, case-control and cohort design were included. The sample size in these studies varied between 7 and 148 individuals per group. The sample's collection from the placenta was taken from both the maternal and fetal region, peripheral and central, near or far from the insertion of the umbilical cord.

The biomarkers evaluated in the studies were related to RONS-based oxidative damage, such as malondialdehyde (MDA) (n=12), 8-hydroxy-2' -deoxyguanosine (8-OH-dG) (n=2), lipid peroxides (n=7), isoprostanes (n=3), total oxidant status (TOS) (n=2) and carbonyl protein (n=5) (Figure 2). They also used hydrogen peroxyde (H_2O_2) (n=5) and nitric oxide (NO) (n=2), two of the RONS. Antioxidant activity was revealed by analysis of enzymes, such as SOD (n=13), CAT (n=4), GPx (n=12), glutathione S- transferase (GST) (n=5), glutathione reductase (n=1), thioredoxin reductase (n=2) and total antioxidant status (TAS) (n=3), and non-enzymatic antioxidants, like reduced glutathione (GSH) (n=6), vitamin C (n=3) and E (n=4), zinc (Zn) (n=2), copper (Cu) (n=2), among others. In addition, a relationship between TAS and TOS, called the oxidative stress index (OSI) (n=1), was evaluated (Figure 3). Table 2 shows the OS biomarkers evaluated by each study included in the present analysis.

In general, the majority of studies evaluated more than one class of OS biomarkers, for instance, the ones derived from oxidative damage and antioxidants. Among them, the most widespread one was SOD, followed by MDA and GPx. In turn, those that were less reported in the studies were 8-OH-dG, TOS, NO, Zn, and Cu. The surveys came from all continents, with Turkey being the most frequently found country in the included studies.

Assessment of the methodological quality

Regarding the methodological quality, 31 (72.1%) of the included studies presented good quality, while 12 (27.9%) were classified as poor quality. For the latter studies, the categories regarding the selection domain showed inadequate quality, which compromised the scores of the studies (Table 3).

Data Analysis

MDA. Nine studies were included in the analysis, with a total of 233 individuals with PE and 276 healthy individuals. Three studies were excluded due to incomplete or inconsistent data.

MDA levels were significantly elevated in PE placenta compared to healthy ones (SMD: -1.82, CI 95%: [-2.93; -0.70], P= 0.001; I² = 95.8% and P<0.01) (Figure 4).

Lipid peroxides. Five studies were included in the analysis, with a total of 103 individuals with PE and 111 healthy individuals. Three studies were excluded due to incomplete or inconsistent data. Overall, significant increase in lipid peroxides level was found in PE placenta, compared to healthy pregnant women (SMD: -1.15, CI 95%: [-2.06; -0.24], P= 0.013; I² = 88.4% and P<0.01) (Figure 5).

H₂O₂. Four studies were included in the analysis, with a total of 59 individuals with PE and 60 healthy individuals. One study was excluded due to incomplete or inconsistent data. H₂O₂ levels were significantly elevated in PE placenta compared to healthy (SMD: -2392, CI 95%: [-3326; -1459], P< 0.01; I² = 93.1% and P<0.01). (Figure 6).

SOD. Twelve studies were included in the analysis, separated by units of measure, with a total of 321 individuals with PE and 373 healthy individuals. Overall, significant reduction in SOD level was found in PE placenta compared to healthy placenta (SMD: 1.25, CI 95%: [0.57; 1.93], P< 0.01; I² = 92.9% and P<0.01) (Figure 7).

CAT. Three studies were included in the analysis, with a total of 50 individuals with PE and 64 healthy individuals. No difference was found between groups (SMD: -0.49, CI 95%: [-3.21; 2.22], P= 0.72; I² = 96.1% and P<0.01) (Figure 8).

GPx. Seven studies were included in the analysis, with a total of 128 individuals with PE and 121 healthy individuals. Four studies were excluded due to incomplete or inconsistent data. Overall, significant reduction in GPx level was found in PE placentas compared to healthy placentas (SMD: 3.98, CI 95%: [2.08; 5.87], P= 0.72; I² = 95.5% and P<0.01) (Figure 9).

GST. Three studies were included in the analysis, with a total of 60 individuals with PE and 53 individuals in the control group. Two studies were excluded due to incomplete or inconsistent data. No difference was found between groups (SMD: 0.13, CI 95%: [-0.24; 0.50], P= 0.49; I² = 0.0% and P=0.53) (Figure 10).

No meta-analyses were carried out for NO and GSH because there was a limited number of studies and very heterogeneous ways of reporting the data.

DISCUSSION

The present meta-analysis showed that PE placentas are characterized by lower levels of enzymatic antioxidants (SOD and GPx) and higher levels of MDA and lipid peroxides, in comparison to healthy placentas.

This meta-analysis is the first carried out with studies that evaluated OS biomarkers at the placental level. Such analysis is essential to investigate the most evaluated markers in the placentas of women with PE and possibly establish the most consistent ones, along with the alterations of their concentration in PE placentas. The analysis in the placenta is relevant since it is a crucial organ for adequate fetal growth and development [11,16].

It is speculated in the literature that in PE, there is an imbalance in the placenta of the antioxidant defense composed by the enzymatic (SOD, CAT, GST, and GPx) and non-enzymatic (GSH, vitamins C and E, selenium (Se), Cu, and Zn) defense systems. Among the enzymatic antioxidants, only SOD, CAT, GPx and GST were included in this meta-analysis, where a reduction in SOD and GPx was found in placental PE. SOD is an essential line of the enzymatic defense system. It catalyzes the dismutation of O_2^\bullet in H_2O_2 and O_2 [63]. In turn, CAT and GPx are responsible for converting H_2O_2 into water and O_2 . Such enzymes are essential for the reduction of this reactive species, mainly when high levels of H_2O_2 are found [64-66].

Placental GST contributes to improving maternal and fetal detoxification capacity [52,67]. Some studies [20,52,54,57,59] found lower levels of this enzyme in PE placenta, when compared to those without the disease. Similarly, in the case of GPx, the studies identified lower concentrations of this enzyme. However there are discrepancies. Some studies detected increased concentrations in the placentas [26,37,54,60], and in others decreased concentrations [20,23,24,26,30-32,36-38,41,42, 46,52,55,57,59-61].

As for the non-enzymatic antioxidant defense system, the GSH, one of the main antioxidants present in the human body, needs to be highlighted. It can be oxidized to GSSG, which can be reduced back to two molecules of GSH, by the action of glutathione reductase (GR). Therefore, the GSH/GSSG ratio is an excellent marker to assess redox imbalance, where a lower GSH/GSSG ratio is related to OS [68]. Among the studies that evaluated the placental GSH, when compared to the healthy control, in some studies, GSH levels were reduced [31,42,46,57], and in others, it was increased [54,58] in the PE placenta.

Vitamins C and E are antioxidants that must be considered. Although they have not been included in the meta-analysis, studies have shown that they play an effective role in preventing damage caused by RONS, once they play an effective role in preventing free radical damage, these antioxidants or their biochemical precursors and stimulators need to be ingested in adequate amounts by the daily diet or supplemented. As such, the individual's diet plays an important role [13,69].

Wang et al. (1996) [60] found that the tissue levels of vitamin E were significantly lower in PE than in healthy placentas. Bowen et al. (2001) [50] reported that placental concentration of vitamin C was not significantly different in PE, as compared with normal pregnancy. In the meta-analysis performed by Taravati et al. (2018) [18], blood levels of vitamins C and E were significantly lower in PE placentas compared to control placentas. Vitamin C has been proposed as a first-line defense in the aqueous phase protecting lipoproteins from peroxidation by a broad spectrum of free radicals. However, vitamin C in high amounts may serve as pro-oxidant, and lipid peroxidation products may be increased in this situation [70].

Oxidative-damage based biomarkers have also been assessed, and the clinical relevance of such biomarkers has been examined in the placenta. Such biomarkers include carbonyl proteins, lipid oxidation products as MDA and lipid peroxide, F2-isoprostanes, DNA/RNA oxidation products, like 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OH-dG), H₂O₂ and total oxidant status (TOS). Additionally, reactive species such as H₂O₂ and NO were evaluated by these authors, but in two studies [25,48], the levels of NO were evaluated using nitrite, the product of its oxidation, and also by measuring the enzyme NOS, responsible for the NO synthesis.

Many authors have reported increased levels of OS indicators, including lipid peroxidation markers such as MDA and lipid peroxide and an increased generation rates of H₂O₂, F2-isoprostanes, protein carbonyls, 8-OHdG, and superoxide, in PE placentas. The findings of the present meta-analysis indicate an increase of MDA and lipid peroxides in PE placenta, corroborating what was observed in the analysis of Taravati et al. (2018) [18], conducted in PE blood.

The lipid peroxidation is an event capable of triggering cell injuries in sequence, leading to the formation of several substances in each of the three stages of the process, including the radicals peroxy (ROO[•]), alkoxy (RO[•]) and hydroxyl (HO[•]), in addition to non-radical species, such as MDA and 4-hydroxynonenal (4-HNE). The latter are aldehydes and have been considered to be responsible for the occurrence of low placental perfusion, which leads to the adhesion of platelets and leukocytes to the vascular endothelium causing vasoconstriction and increased peripheral vascular resistance [64,71].

MDA can induce endothelial dysfunction, damage cell membranes directly, and reduce endothelial vasorelaxation. It has been suggested in the literature that higher blood levels of MDA correlate with the severity of PE, as well as that in the period between 20-23

weeks of gestation, in women with PE, the levels of MDA are higher compared to healthy pregnant women [72]. Other studies [20,26,29,31,40,46] found increased placental levels of MDA in the PE group when compared to the control group. On the other hand, Bowen et al. (2001) [50] found that there was no significant difference between the groups in the MDA and lipid peroxide levels of the placenta.

Regarding ROS, studies have evaluated H_2O_2 . Despite being a less reactive species, it can inactivate enzymes, mainly due to the oxidation of essential thiol groups. Its highest oxidative potential is exercised, however, by the indirect form, through the generation of the radical HO^\bullet , produced via the Fenton reaction. H_2O_2 , in these conditions, becomes a strong oxidizer, because when in adequate concentrations and combined with Fe (II), it can increase its toxicity from 10 to 100 times, thus being harmful to cellular structures. Leblanc et al. (2012) [28] findings highlight an increase in H_2O_2 levels in maternal serum early at 10–15 weeks, at term, and in the PE placenta. Aris et al., (2009) [34] observed that the high circulating H_2O_2 was inversely correlated with a lowered NO production, which suggests that OS observed in PE affects both maternal circulation and the placenta.

There were different location points of the placenta where the markers were measured. In the literature, it is observed that levels of these OS markers may vary depending on the region of the placenta in which they were analyzed, which may justify the high heterogeneity found in the analyses.

Still about the location of the placenta, the Sahay's study (2015) [26] evaluated samples collected in four distinct regions of the placenta (central maternal, central fetal, peripheral maternal, and peripheral fetal regions) and other studies collected only one location ranging from decidua plate to central region of the placenta along with the placental mass, from the basal to the chorionic surface. It is noteworthy that the cuts made near the maternal basal plate and the terminal villi are more abundant. Sahay et al. (2015) [26] also show that OS is higher in the peripheral than in the central region of a placenta. Although the placenta is a discrete organ, its complex structure results in heterogeneous function in different areas. The degree of vascularization differs across the organ resulting in differences in oxygen availability in these regions. The OS in different placental regions, in turn, might influence the structural organization and functions of the placenta and have a differential effect on pregnancy outcome [73].

There are some limitations in the present study, especially concerning the methodological differences used in the included studies, such as: (a) the use of divergent

measurement units for the quantification of the same type of marker, as well as the method used for this measurement; (b) different sites of collection of the placental sample; (c) different diagnostic criteria for PE, which in this case, also occurred due to the advance of the literature for the characterization of the disease as it passes over the years since there were included studies, which were carried out in the '90s and (d) several studies could not be included in the meta-analyses, as they contained inconsistent or incomplete data. Finally, it is noteworthy that the results of the present meta-analysis were very heterogeneous, and they may only be used to indicate a trend on the biomarkers values between groups, rather than to point out the exact values, representative of each biomarker differences between groups.

Given the above, the findings of this study corroborate the scientific literature concerning redox imbalance markers in PE. Such data can strengthen research related to clarifying the pathogenesis and pathophysiology of PE, as well as assisting in the process of its complete elucidation. Excessive production of ROS may occur in placental development and pathologic pregnancies, such as those complicated by PE or intrauterine growth restriction, overpowering antioxidant defenses with deleterious outcomes.

CONCLUSION

In this study, it was observed that there is OS in PE placentas, once the lower activity of some of the antioxidant enzymes (SOD and GPx), and an increase in oxidative damage markers (MDA and lipid peroxide) were observed, corroborating with the literature regarding the redox imbalance. Such findings reveal the need to develop clinical strategies in order to adapt the intake of antioxidants, as it seems to be an essential factor in the modulation of OS caused by the PE.

REFERENCES

- [1] A.S. Belay, T. Wudad, Prevalence and associated factors of pre-eclampsia among pregnant women attending anti-natal care at Mettu Karl referral hospital, Ethiopia: cross-sectional study, *Clin Hypertens.* 25 (2019) 1-8.
- [2] E. Abalos, C. Cuesta, A.L. Grosso, D. Chou, L. Say, Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: a systematic review, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 170 (2013) 1-7.
- [3] R. Fox, J. Kitt, P. Leeson, C.Y.L. Aye, A.J. Lewandowski, Preeclampsia: Risk Factors, Diagnosis, Management, and the Cardiovascular Impact on the Offspring, *J Clin Med.* 4 (2019) 1-22.

- [4] G.J. Burton, C.W. Redman, J.M. Roberts, A. Moffett, Pre-eclampsia: pathophysiology and clinical implications, *BMJ- British Medical Journal*. 366 (2019) 1-15.
- [5] L. Guedes-Martins, L. Matos, A. Soares, E. Silva, H. Almeida, AGEs, contributors to placental bed vascular changes leading to preeclampsia, *Free Radical Research*. 47 (2013) 70-80.
- [6] F. Wu, F.J. Tian, Y. Lin, Oxidative stress in placenta: health and diseases, *BioMed research international*. 2015 (2015) 1-16.
- [7] Y. Yang, X. Su, W. Xu, R. Zhou, Interleukin-18 and interferon gamma levels in preeclampsia: a systematic review and meta-analysis, *Am J Reprod Immunol*. 72 (2014) 504-514.
- [8] L. Mirković, L. Nejković, J. Micić, A new pathophysiological concept and new classification of pre-eclampsia, *Vojnosanitetski pregled*. 75 (2018) 83-94.
- [9] N. Salavati, M. Smies, W. Ganzevoort, A.K. Charles, J.J. Erwich, T. Plösch, S.J. Gordijn, The Possible Role of Placental Morphometry in the Detection of Fetal Growth Restriction, *Frontiers in Physiology*. 9 (2019) 1-12.
- [10] G. Turowski, W.T. Parks, S. Arbuckle, A.F. Jacobsen, A. Heazell, The structure and utility of the placental pathology report, *Apmis*. 126 (2018) 638-646.
- [11] I.Torres-Cuevas, A. Parra-Llorca, A. Sánchez-Illana, A. Nunez-Ramiro, J. Kuligowski, C. Chafer-Pericas, Oxygen and oxidative stress in the perinatal period, *Redox Biology*. 12 (2017) 674-681.
- [12] D.A. Shah, R.A. Khalil, Bioactive Factors in Uteroplacental and Systemic Circulation Link Placental Ischemia to Generalized Vascular Dysfunction in Hypertensive Pregnancy and Preeclampsia, *Biochem Pharmacol*. 15 (2015) 211-226.
- [13] H. Sies, C. Berndt, D.P. Jones, Oxidative stress, *Annu. Rev. Biochem*. 86 (2017) 715-748.
- [14] E. Ho, K.K. Galougahi, C.C. Liu, R. Bhindi, G.A. Figtree, Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice, *Redox Biology*. 1 (2013) 483-491.
- [15] M.B. Tenório, R.C. Ferreira, F.A. Moura, N.B. Bueno, A.C.M. de Oliveira, M. O. F. Goulart, Cross-Talk between Oxidative Stress and Inflammation in Preeclampsia, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019 (2019) 1-27.
- [16] R. Aouache, L. Biquard, D. Vaiman, F. Miralles, Oxidative stress in preeclampsia and placental diseases, *International journal of molecular sciences*. 19 (2018) 1-29.
- [17] O. Karacay, A. Sepici-Dincel, D. Karcaaltincaba, D. Sahin, S. Yalvaç, M. Akyol, O. Kandemir, N. Altan, A quantitative evaluation of total antioxidant status and oxidative

stress markers in preeclampsia and gestational diabetic patients in 24-36 weeks of gestation, *Diabetes Research and Clinical Practice*. 89 (2010) 231-238.

[18] A. Taravati, F. Tohidi, Comprehensive analysis of oxidative stress markers and antioxidants status in preeclampsia, *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*. 57 (2018) 779-790.

[19] G.A. Wells, B. Shea, D. O'Connell, J. Peterson, V. Welch, M. Losos, P. Tugwell, The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses (2019). Available: http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp. Access: 16.04.20.

[20] Y.A. Al-Sheikh, Y. Khaled, A.L. Zahrani, The Status of Biochemical and Molecular Markers of Oxidative Stress in Preeclamptic Saudi Patients, *Curr Mol Med*. 18 (2018) 475-485.

[21] M. Brien, J. Larose, K. Greffard, P. Julien, J.F. Bilodeau, Increased placental phospholipase A2 gene expression and free F2- isoprostane levels in response to oxidative stress in preeclampsia, *Placenta*. 55 (2017) 54-62.

[22] A. Yoshida, K. Watanabe, A. Iwasaki, C. Kimura, H. Matsushita, A. Wakatsuki, Placental oxidative stress and maternal endothelial function in pregnant women with normotensive fetal growth restriction, *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* (online). (2017) 1-7.

[23] K. Daglar, A. Kirbas, H. Timur, Z. Ozturk, N. Danisman, Placental levels of total oxidative and anti-oxidative status, ADAMTS-12 and decorin in early- and late-onset severe preeclampsia, *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* (online). (2016) 1-6.

[24] V. D'Souza, R. Alka, V. Patil, H. Pisal, K. Randhir, S. Mehendale, G. Wagh, S. Gupte, S. Josh, Increased oxidative stress from early pregnancy in women who develop preeclampsia, *Clinical and Experimental Hypertension*. 38 (2016) 225-232.

[25] F.C. Bernardi, F. Vuolo, F. Petronilho, M. Michels, C. Ritter, F. Dal-Pizzol, Plasma nitric oxide, endothelin-1, arginase and superoxide dismutase in the plasma and placenta from preeclamptic patients, *An Acad Bras Cienc*. 87 (2015) 713-719.

[26] A.S. Sahay, D.P. Sundrani, G.N. Wagh, S.S. Mehendale, S.R. Joshi, Regional differences in the placental levels of oxidative stress markers in pre-eclampsia, *Int J Gynaecol Obstet*. 129 (2015) 213-218.

[27] M. Can, B. Guvena, S. Bektasb, I. Aarikanca, Oxidative stress and apoptosis in preeclampsia, *Tissue Cell*. *In press* (2014) 1-5.

[28] S. Leblanc, A. Ouellet, Y. Giguère, J.C. Forest, J.M. Moutquin, A. Ari, A Positive Correlation between Hydrogen Peroxide and Soluble TNF-Alpha Receptor 2 Early in Maternal Blood and At Term in Placenta of Pregnant Women with Preeclampsia, *Hypertension in Pregnancy*. 31 (2012) 357-366.

- [29] F.C. Bernardi, F. Felisberto, F. Vuolo, F. Petronilho, D.R. Souza, T.F. Luciano, C.T. Souza, C. Ritter, F. Dal-Pizzol, Oxidative Damage, Inflammation, and Toll-Like Receptor 4 Pathway Are Increased in Preeclamptic Patients: A Case-Control Study, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2012 (2012) 1-6.
- [30] E. Ozturk, O. Balat, Y.G. Acılmış, C. Ozcan, S. Pence, Ö. Erel, Measurement of the placental total antioxidant status in preeclamptic women using a novel automated method, *J. Obstet. Gynaecol.* 37 (2011) 337–342.
- [31] N. Rani, R. Dhingra, D.S. Arya, M. Kalaivani, N. Bhatla, R. Kumar, Role of oxidative stress markers and antioxidants in the placenta of preeclamptic patients, *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 36 (2010) 1189-1194.
- [32] H.D. Mistry, L.O. Kurlak, P.J. Williams, M.M. Ramsay, M.E. Symonds, F.B. Pipkin, Differential expression and distribution of placental glutathione peroxidases 1, 3 and 4 in normal and preeclamptic pregnancy, *Placenta*. 31 (2010) 401-408.
- [33] E. Teran, P. Chedraui, S. Vivero, F. Villena, F. Duchicela, L. Nacevilla, Plasma and placental nitric oxide levels in women with and without pre-eclampsia living at different altitudes, *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. 104 (2009) 140–142.
- [34] A. Aris, S. Benali, A. Ouellet, J.M. Moutquin, S. Leblanc, Potential biomarkers of preeclampsia: Inverse correlation between hydrogen peroxide and nitric oxide early in maternal circulation and at term in placenta of women with preeclampsia, *Placenta*. 30 (2009) 342–347.
- [35] A.K. Wikström, P. Nash, U.J. Eriksson, M.H. Olovsson, Evidence of increased oxidative stress and a change in the plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 to PAI-2 ratio in early-onset but not late-onset preeclampsia, *Am J Obstet Gynecol*. 201 (2009) 597e1-597e8.
- [36] H.D. Mistry, V. Wilson, M.M. Ramsay, M.E. Symonds, F. B. Pipkin, Reduced Selenium Concentrations and Glutathione Peroxidase Activity in Preeclamptic Pregnancies, *Hypertension*. (2008) 881-888.
- [37] A. Biri, N. Bozkurt, G. Gunaydina, U. Korucuoglu, I. Durakb, M. Kavutcu, Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in preeclampsia, *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. 96 (2007) 196–207.
- [38] S. Zamudio, O. Kovalenko, J. Vanderlelie, N.P. Illsley, D. Heller, S. Belliappa, A.V. Perkins, Chronic hypoxia *in vivo* reduces placental oxidative stress, *Placenta*. 28 (2007) 846–853.
- [39] S. Açıkgoz, M. Harma, M. Harma, G. Mungan, M. Can, S. Demirtas, Comparison of Angiotensin-Converting Enzyme, Malonaldehyde, Zinc, and Copper Levels in Preeclampsia, *Biological Trace Element Research*. 113 (2006) 1-8.
- [40] Y.H. Kim, C.H. Kim, M.K. Cho, K.M. Kim, S.Y. Lee, B.W. Ahn, S.Y. Yang, S.M. Kim, T.B. Song, Total peroxyl radical-trapping ability and antioxidant vitamins of the umbilical

venous plasma and the placenta in pre-eclampsia, *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 32 (2006) 32–41.

[41] J. Vanderlelie, K. Venardos, V.L. Clifton, N.M. Gude, A.V. Perkins, Increased biological oxidation and reduced antioxidant enzyme activity in pre-eclamptic placentae, *Placenta*. 26 (2005) 53-58.

[42] Y. Atamer, Y. Kocyigit, B. Yokus, A. Atamer, A.C. Erden, Lipid peroxidation, antioxidant defense, status of trace metals and leptin levels in preeclampsia, *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 119 (2005) 60–66.

[43] H. Wiktor, M. Kankofer, I. Schmerold, A. Dadak, M. Lopucki, H. Niedermüller, Oxidative DNA damage in placentas from normal and pre-eclamptic pregnancies, *Virchows Arch*. 445 (2004) 74–78.

[44] S. Zeteroğlu, Y. Ustün, Y.E. Ustün, Placental and cord malondialdehyde and maternal and perinatal outcomes, *Int J Gynaecol Obstet*. 85 (2004) 47-49.

[45] Z. Serdar, E. Gür, M. Colakoethullary, O. Develioethlu, E. Sarandöl, Lipid and protein oxidation and antioxidant function in women with mild and severe preeclampsia, *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 268 (2003) 19-25.

[46] R. Madazli, A. Benian, S. Aydin, H. Uzun, N. Tolun, The plasma and placental levels of malondialdehyde, glutathione and superoxide dismutase in pre-eclampsia, *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 22 (2002) 477–480.

[47] P.L. Zusterzeel, H. Rütten, H.M. Roelofs, W.H. Peters, E.A. Steegers, Protein Carbonyls in Decidua and Placenta of Pre-Eclamptic Women as Markers for Oxidative Stress, *Placenta*. 22 (2001) 213-219.

[48] A.H. Shaamash, E.D. Elsonosy, M.M. Zakhari, S.H. Radwan, H.M. El-Dien, Placental nitric oxide synthase _NOS/ activity and nitric oxide _NO/ production in normal pregnancy, pre-eclampsia and eclampsia, *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 72 (2001) 127-133.

[49] P.R. Palan, M.S. Mikhail, S.L. Romney, Placental and serum levels of carotenoids in preeclampsia, *Obstet Gynecol*. 98 (2001) 459-462.

[50] R.S. Bowen, J. Moodley, M.F. Dutton, A.J. Theron, Oxidative stress in pre-eclampsia, *Acta Obstet Gynecol Scand*. 80 (2001) 719–725.

[51] A.C. Staff, T. Ranheim, J. Khoury, T. Henriksen, Increased contents of phospholipids, cholesterol, and lipid peroxides in decidua basalis in women with preeclampsia, *Am J Obstet Gynecol*. 181 (1999) 1211-1215.

[52] P.L.M. Zusterzeel, W.H.M. Peters, M.A.H. Bruyn, M.F.C.M. Knapen, H.M.W.M. Merkus, E.A.P. Steegers, Glutathione S-Transferase Isoenzymes in Decidua and Placenta of Preeclamptic Pregnancies, *Obstetrics & Gynecology*. 94 (1999) 1033-1038.

- [53] E. Gratacós, E. Casals, R. Deulofeu, O. Gomez, V. Cararach, P.L. Alonso, A. Fortuny, serum and placental lipid peroxides in chronic hypertension during pregnancy with and without superimposed preeclampsia, hypertension in pregnancy. 18 (1999) 139-146.
- [54] M.F.C.M. Knapen, W.H.M. Peters, T.P.J. Mulder, H.M.W.M. Merkus, J.B.M.J. Jansen, E.A.P. Steegers, Glutathione and Glutathione-related Enzymes in Decidua and Placenta of Controls and Women with Pre-eclampsia, Placenta. 20 (1999) 541–546.
- [55] H. Wiktor, M. Kankofer, Superoxide dismutase activity in normal and preeclamptic placentas, Ginekol Pol. 69 (1998) 915-918.
- [56] K.A. Boggess, T.D. Oury, H.H. Kay, J.D. Crapo, Extracellular Superoxide Dismutase Localization and Activity Within the Human Placenta, Placenta. 19 (1998) 417-422.
- [57] Ü. Mutlu-Türkog˘lua, E. Ademog˘lua, L. I`brahimog˘lub, G. Aykaç-Tokera, M. Uysala, Imbalance between Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Preeclampsia, Gynecol Obstet Invest. 46 (1998) 37–40.
- [58] J. Neves, A. S. Cruz, I. Azevedo, A. C. Vaz, P. Vasco, P. J. Santos, M. P. Bicho, Glutatio˘n reduzido e oxidado da placenta na gravidez complicada com preeclampsia, Acta m´dica portuguesa, 10 (1997) 357-360.
- [59] A.K. Poranen, U. Ekblad, P. Uotila, M. Ahotup, Lipid Peroxidation and Antioxidants in Normal and Pre-Eclamptic Pregnancies, Placenta. 17 (1996), 401-405.
- [60] Y. Wang, S.W. Walsh, Antioxidant activities and mRNA expression of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in normal and preeclamptic placentas, J Soc Gynecol Investig. 3 (1996) 179-184.
- [61] S.W. Walsh, Y. Wang, Deficient Glutathione Peroxidase Activity in Preeclampsia Is Associated With Increased Placental Production of Thromboxane and Lipid Peroxides, Am J Obstet Gynecol. 169 (1993) 1456-1461.
- [62] Y. Wang, S.W. Walsh, H.H. Kay, Placental lipid peroxides and thromboxane are increased and prostacyclin is decreased in women with preeclampsia, Am J Obstet Gynecol. 167 (1992) 946-949.
- [63] B.D. Little, R.Z. Hopkins, Superoxide Dismutases in Biology and Medicine: Essentials and Recent Advances, Reactive Oxygen Species. 9 (2020) 13–21.
- [64] S. Taysi, A.S. Tascan, M.G. Ugur, M. Demir, Radicals, Oxidative/Nitrosative Stress and Preeclampsia, Mini-Reviews in Medicinal Chemistry. 19 (2019) 178-193.
- [65] M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M.T. Cronin, M. Mazur, J. Telser, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 39 (2007) 44-84.
- [66] R. Rodrigo, C. Guichard, R. Charles, Clinical pharmacology and therapeutic use of antioxidant vitamins, Fundamental & Clinical Pharmacology. 21(2007) 111–127.

- [67] G.M. Pacifici, M. Franchi, C. Colizzi, L. Guiliani, A. Rane, Glutathione S-transferase in humans: Development and tissue distribution, *Arch Toxicol.* 61 (1988) 265–269.
- [68] D. Giustarini, D. Tsikas, G. Colombo, A. Milzani, I. Dalle-Donne, P. Fanti, R. Rossi, Pitfalls in the analysis of the physiological antioxidant glutathione (GSH) and its disulfide (GSSG) in biological samples: An elephant in the room, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 1019 (2016) 21–28.
- [69] K.Q. de Andrade, F.A. Moura, J.M. dos Santos, O.R. de Araújo, J.C. de Farias Santos, M.O. Goulart. Oxidative Stress and Inflammation in Hepatic Diseases: Therapeutic Possibilities of N-Acetylcysteine. *Int J Mol Sci.* 2015;16(12):30269-30308.
- [70] E. Pawlowska, J. Szczepanska, J. Blasiak, Pro- and Antioxidant Effects of Vitamin C in Cancer in correspondence to Its Dietary and Pharmacological Concentrations, *Oxid Med Cell Longev.* 2019 (2019) 1-18.
- [71] J.L. Wu, J. Jia, M. He, Y. Zeng, J. Zhang, E. Shi, S. Lai, X. Zhou, L.M.Sharifu, L. Feng, Placental Origins of Preeclampsia: Potential Therapeutic Targets, *Current Medical Science.* 39 (2019) 190-195.
- [72] H.M. Al-Kuraishy, A.I. Al-Gareeb, T.J. Al-Maiah, Concept and connotation of oxidative stress in preeclampsia, *Journal of Laboratory Physicians.* 10 (2018) 276-282.
- [73] E. Jauniaux, J. Hempstock, N. Greenwold, G.J. Burton, Trophoblastic oxidative stress in relation to temporal and regional differences in maternal placental blood flow in normal and abnormal early pregnancies, *Am J Pathol.* 162 (2003) 115-125.

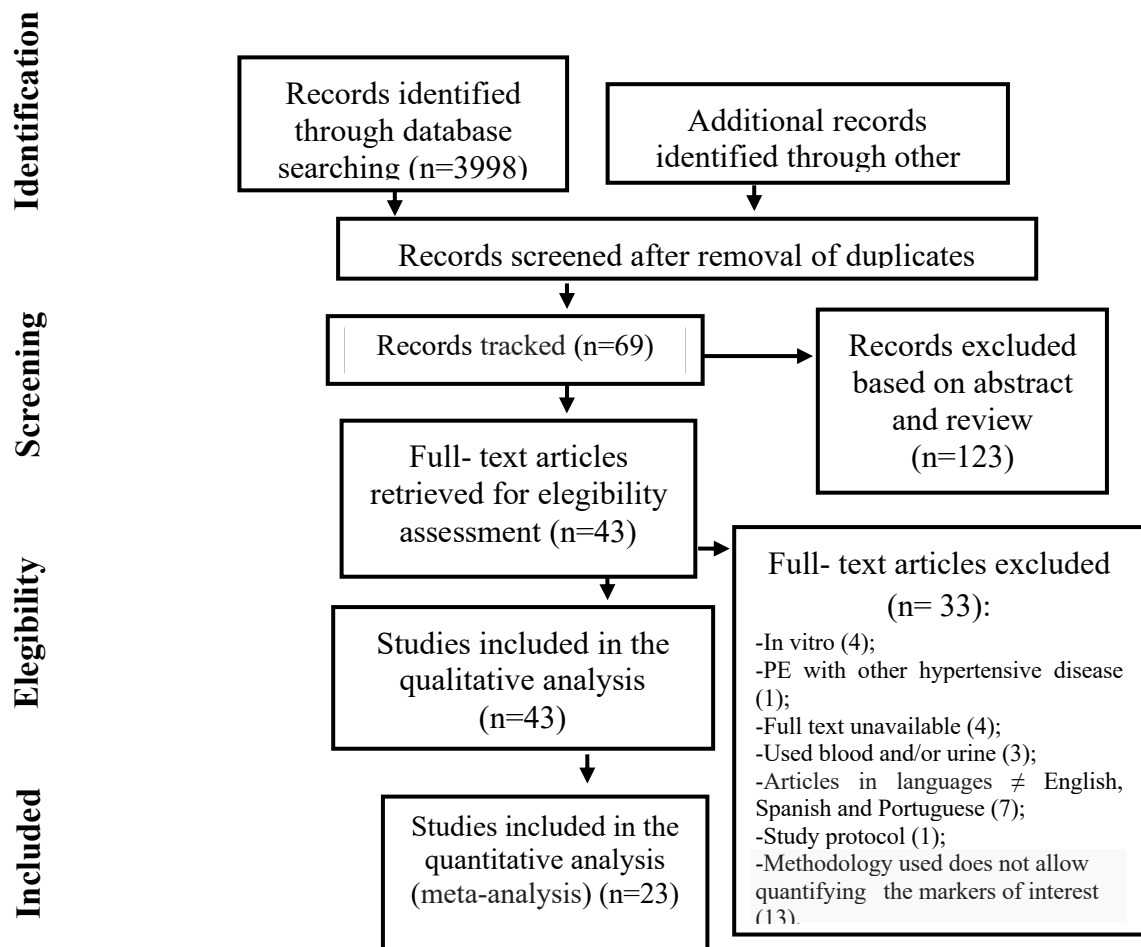
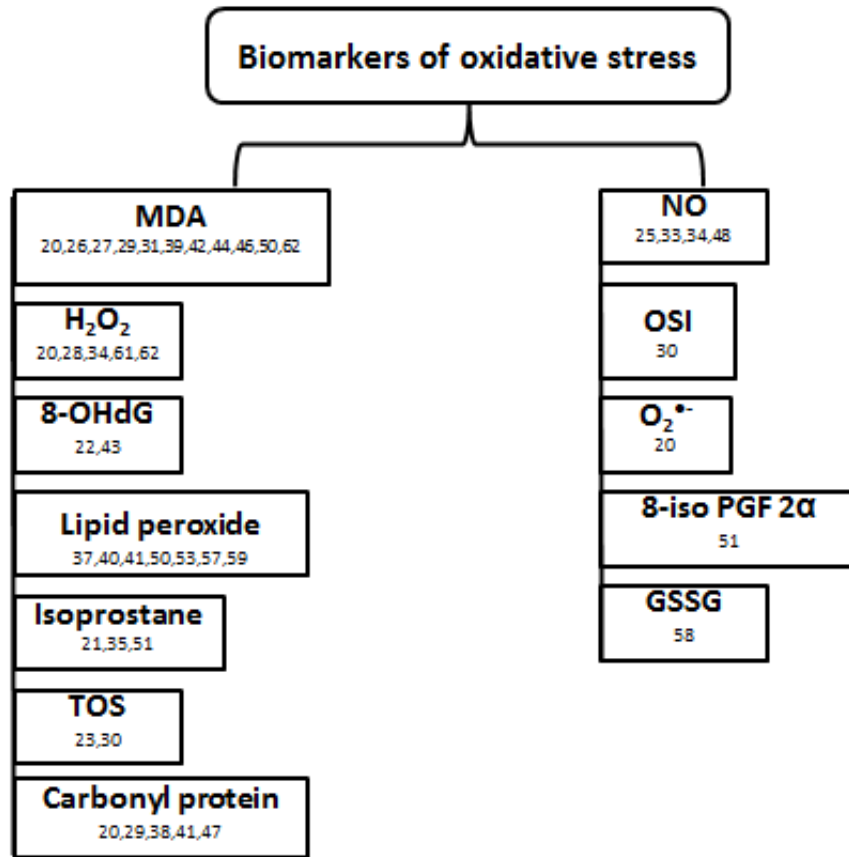


Figure 1. Flow diagram of the study selection.



Legend: GSSG: oxidized glutathione; H₂O₂: hydrogen peroxide; MDA: malondialdehyde; NO: nitric oxide; O₂^{•-}: radical anion superoxide; OSI: oxidative stress index.

Figure 2: Scheme of cell damage markers evaluated in placentas according to the included studies.

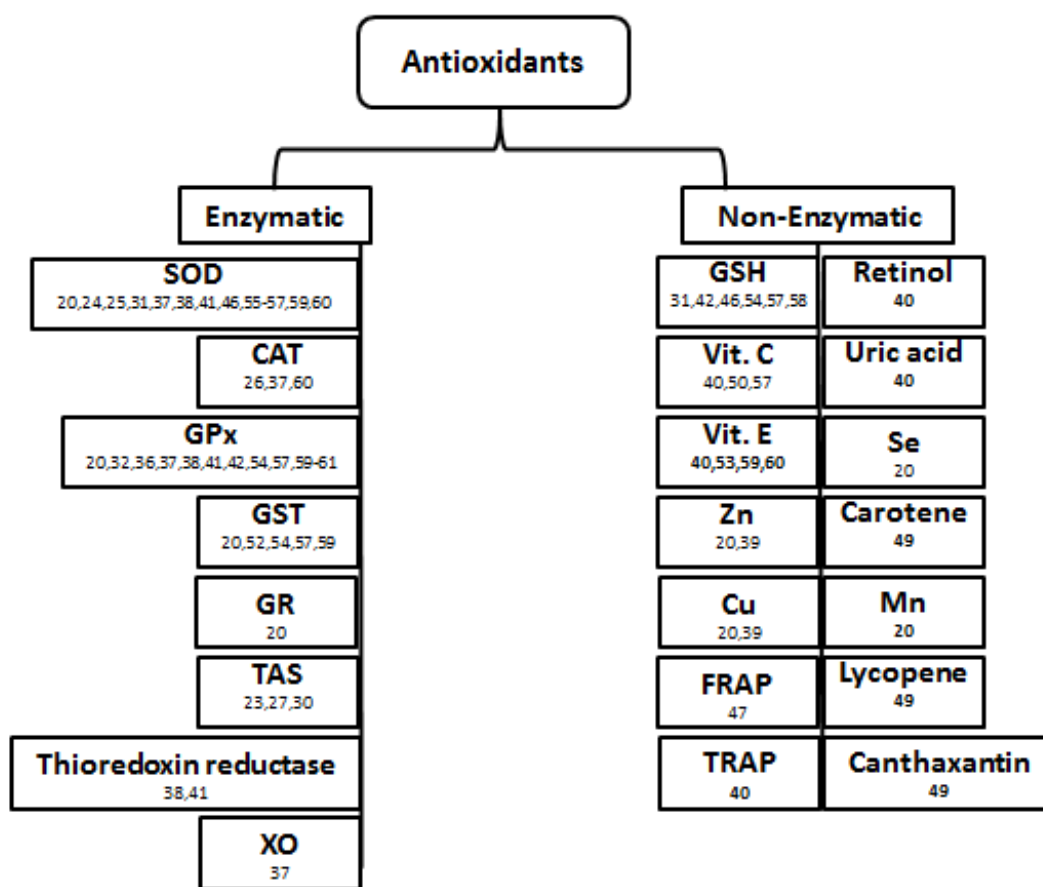


Figure 3: Scheme of antioxidants evaluated in placentas according to the included studies.

Legend: CAT: catalase; Cu: copper; FRAP: ferric reducing antioxidant power; GPx: glutathione peroxidase; GR: glutathione reductase; GSH: reduced glutathione; GST: glutathione S-transferase; Mn: manganese; Se: selenium; SOD: superoxide dismutase; TAS: total antioxidant capacity; TRAP: peroxy radical trapping capacity; Vit. C: vitamin C; Vit. E: vitamin E; XO: xanthine oxidase; Zn: zinc.

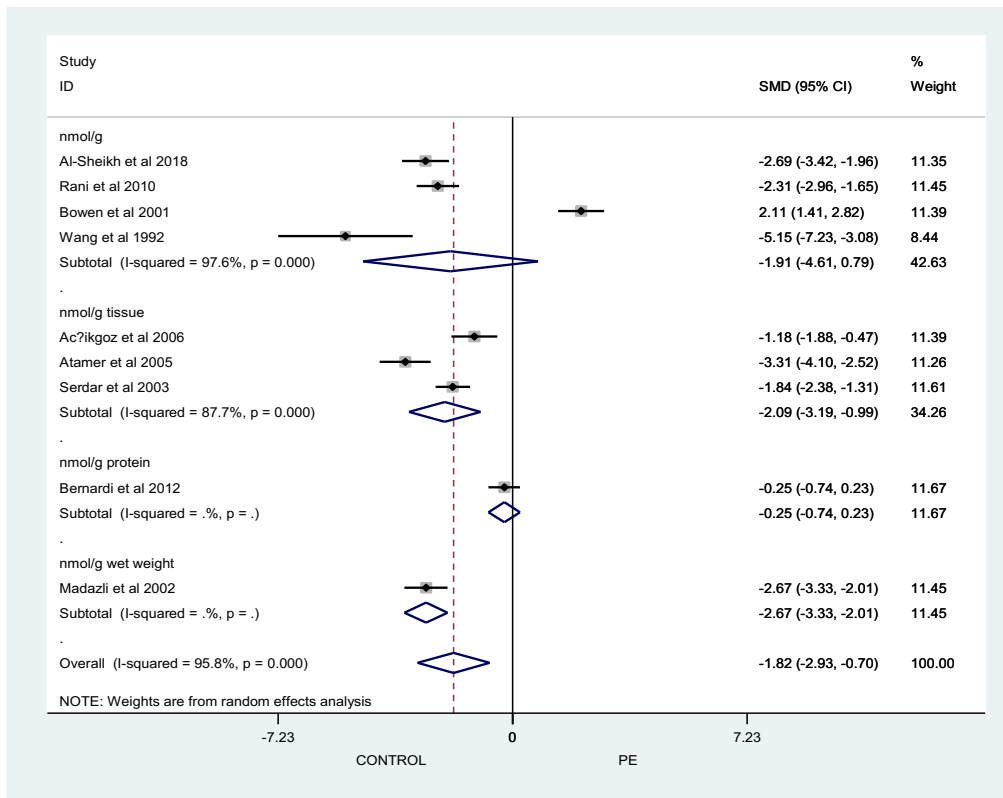


Figure 4: Forest plot showing MDA levels in preeclamptic placentas compared to healthy placentas.

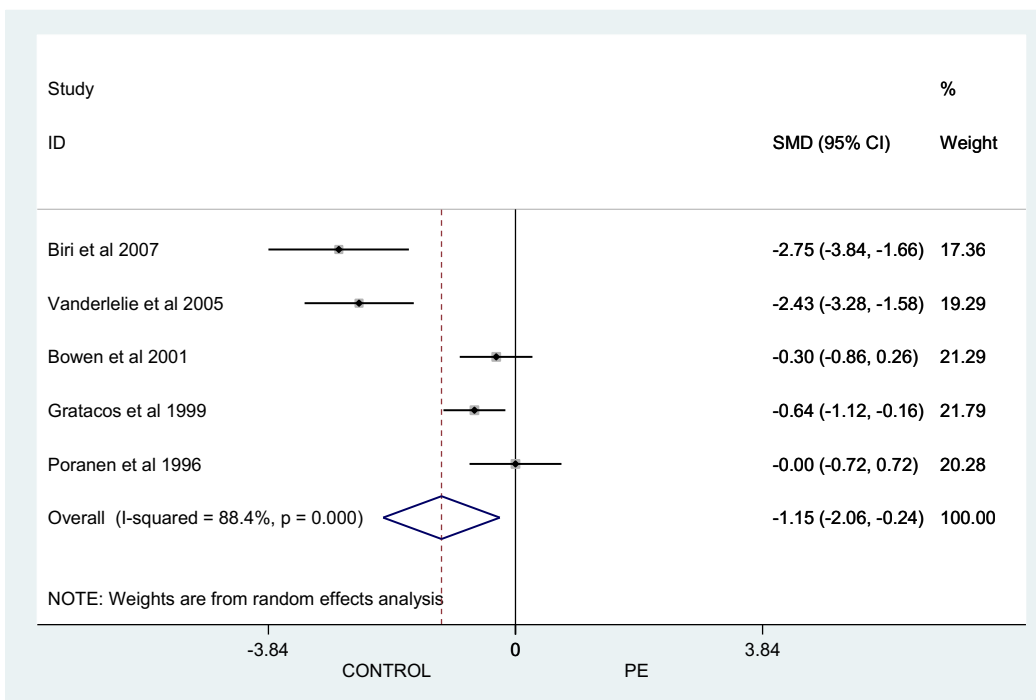


Figure 5: Forest plot showing lipid peroxide levels in preeclamptic placentas compared to healthy placentas

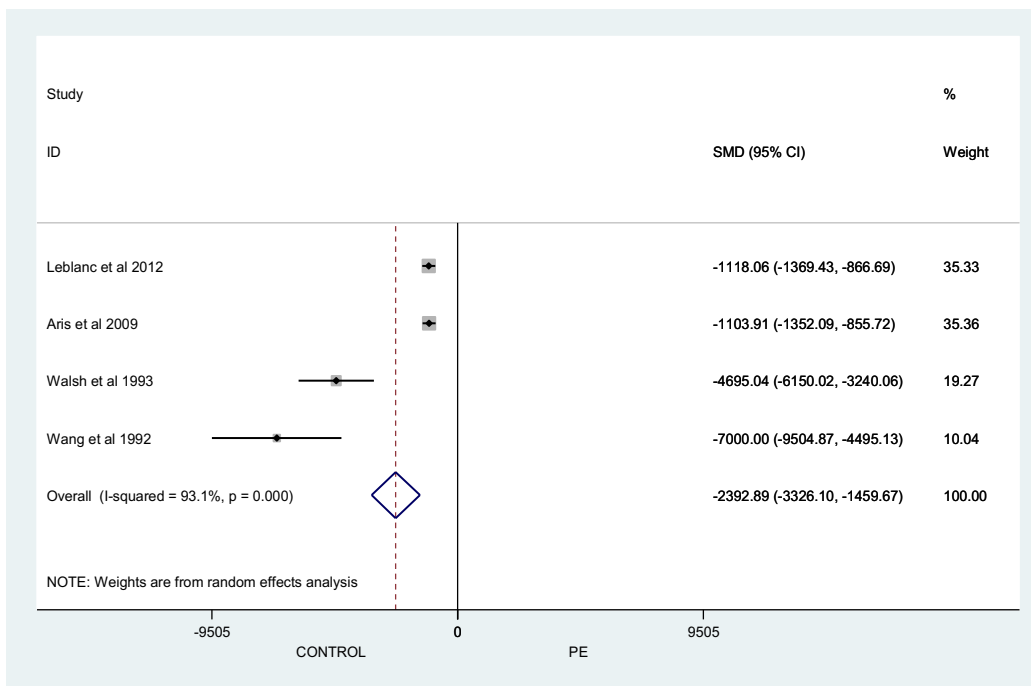


Figure 6: Forest plot showing H₂O₂ levels in preeclamptic placentas compared to healthy placentas

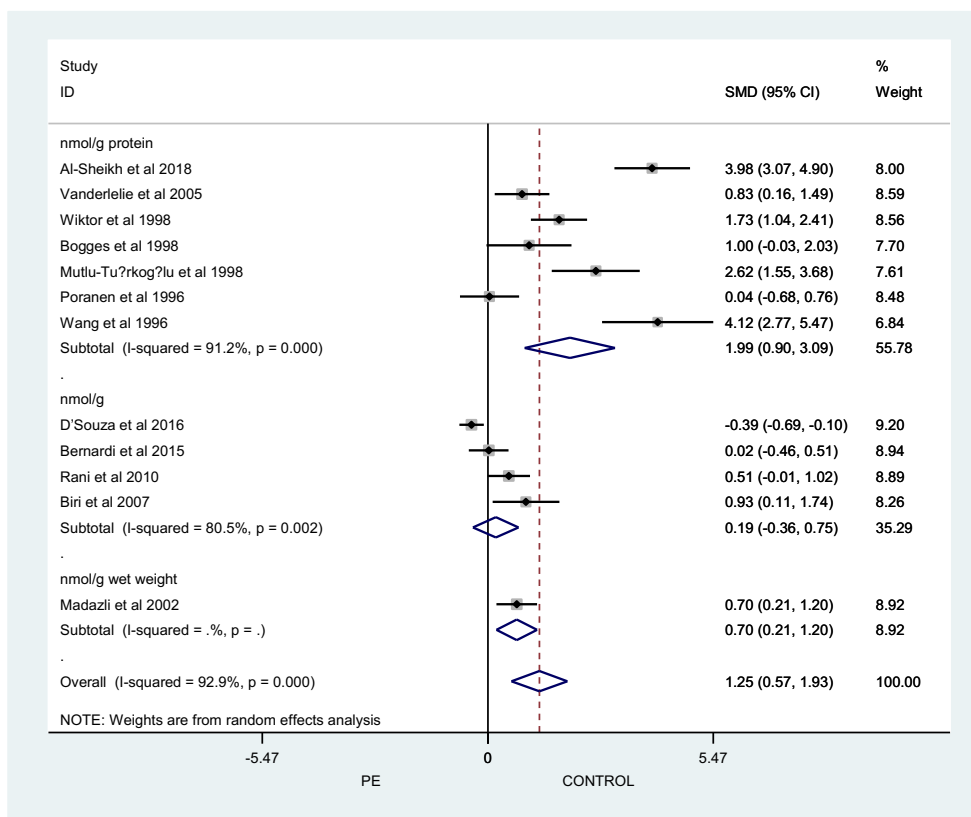


Figure 7: Forest plot showing SOD levels in preeclamptic placentas compared to healthy placentas

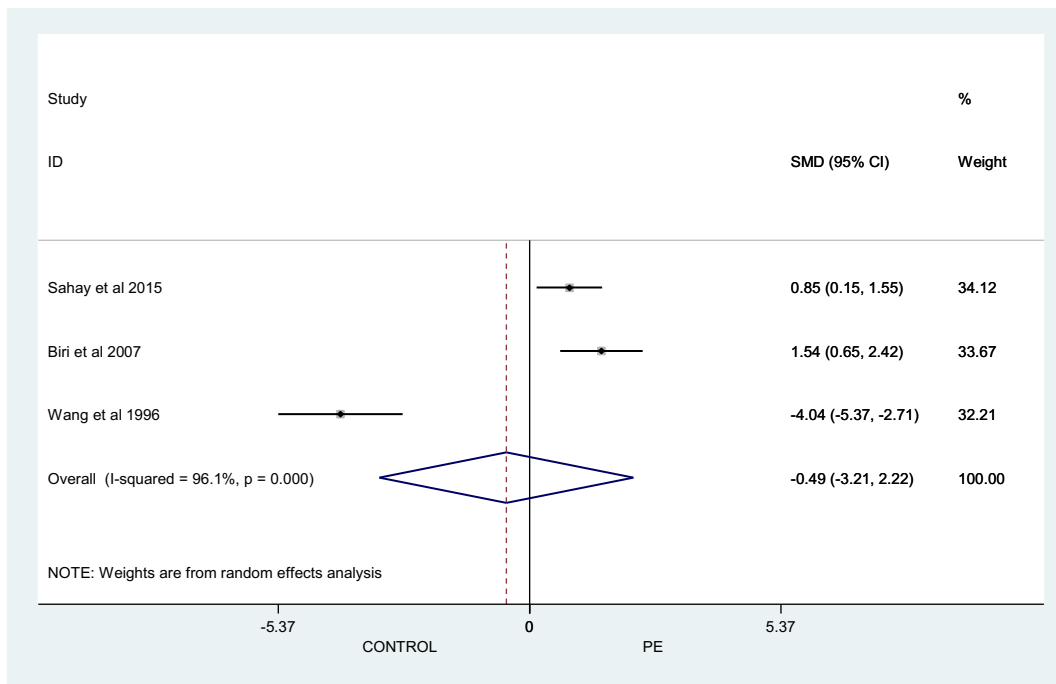


Figure 8: Forest plot showing CAT levels in preeclamptic placentas compared to healthy placentas

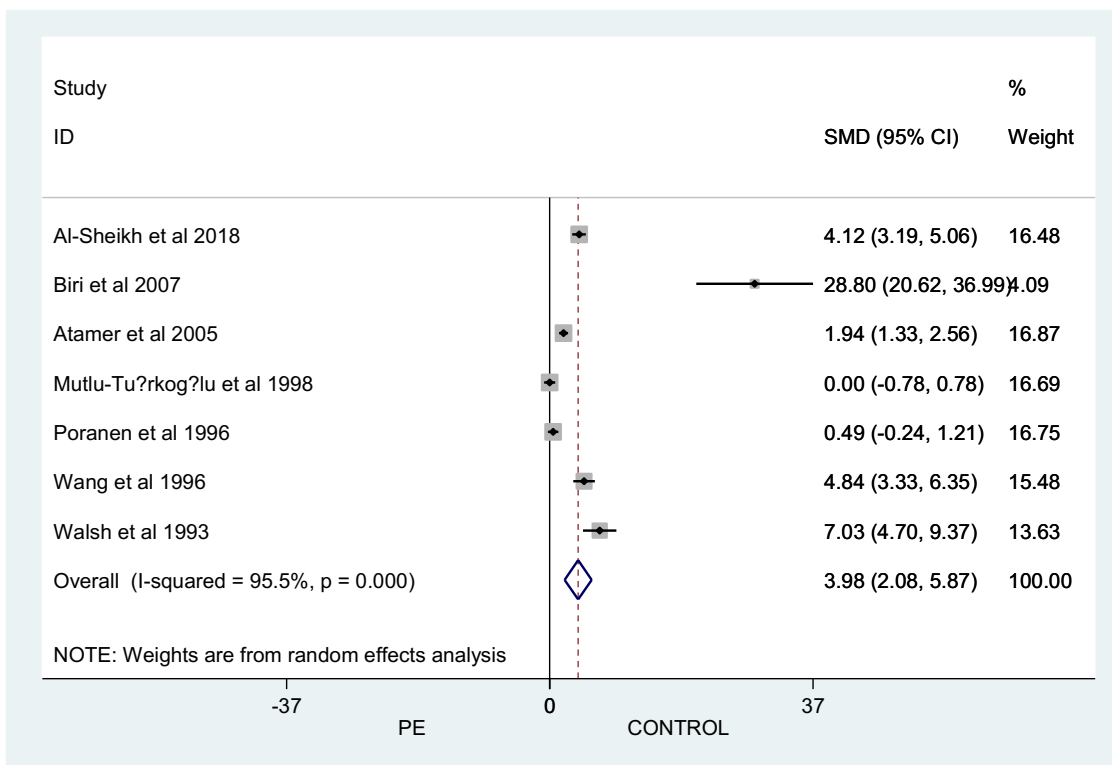


Figure 9: Forest plot showing GPx levels in preeclamptic placentas compared to healthy placentas

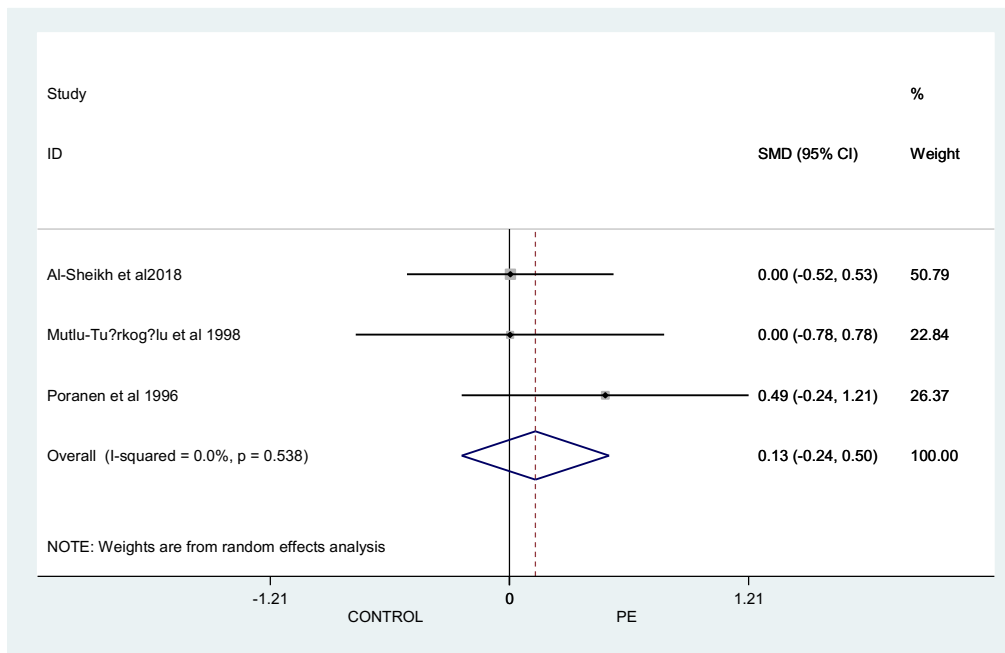


Figure 10: Forest plot showing GST levels in preeclamptic placentas compared to healthy placentas

Table 1: Characteristics of the included studies that evaluated oxidative stress biomarkers in placentas of pregnant women with PE (PE placentas), published until May 12, 2020.

Author/ year	Study design	Sample (n)	Placental sample collection site	Main outcomes
Al-Sheikh et al. 2018 [20]	Case-control	PE: 28 Control: 28	Full-depth placental tissue was collected, and the decidua basalis and the chorionic plate were trimmed off.	↑OS markers (H ₂ O ₂ , O ₂ ^{•-} , MDA, protein carbonyls) → PE ↓ antioxidants (GPx, GR, GST, CAT, SOD) → PE
Brien et al 2017 [21]	Cross-sectional	PE:17 Control: 15	Manually sampled villi from each placenta at the peri-insertion (within 2.5 cm from the insertion of the umbilical cord), and periphery (2.5 cm from the placental margin)	↑F2-isoPs and free F2-isoP → PE
Yoshida et al. 2017 [22]	Case-control	EO-PE: 17 LO-PE: 18 Normotensive FGR: 14 Control: 21	Placental tissue (1×1 cm) without infarcts was collected near the attachment site of the umbilical cord	↑8-OHdG → PE and normotensive FGR
Daglar et al. 2016 [23]	Case-control	EOS-PE: 25 LOS-PE: 26 Control: 28	Quadrangular segment, from the central region of the placenta along with the placental mass, from the basal to the chorionic surface	↑TOS and ↓ TAS → EOS-PE and LOS-PE EOS-PE > LOS-PE
D'Souza et al. 2016 [24]	Longitudinal and comparative study	PE: 64 Control:148	Small pieces were randomly cut out from the placental cotyledons from decidua plate	↑ MDA and ↓ SOD → PE right from 16 to 20 weeks of gestation.
Bernardi et al. 2015	Case-control	PE: 33 Control: 33	Maternal section of the placenta	NO metabolism was altered only at the systemic level but not in the placenta of PE patients.

[25]				
Sahay et al. 2015 [26]	Cross-sectional	PE (at term): 11 PE (preterm): 14 Control: 35	Samples were collected from the central maternal, central fetal, peripheral maternal, and peripheral fetal regions of the placenta	<p>↑ MDA → all regions of the placenta among the PE.</p> <p>↑ MDA central maternal region > central fetal region in the preterm PE group.</p> <p>↓ CAT in the peripheral maternal and fetal regions in the preterm PE</p> <p>↑ GPx in the peripheral maternal region > central fetal region in the control group.</p>
Can et al 2014 [27]	Cross-sectional	PE: 32 Control: 31	Placental samples were taken from the maternal side of the placenta	There was no significant difference between the groups in the TAS levels.
Leblanc et al 2012 [28]	Prospective Cohort	PE: 20 Control: 20	Immediately after delivery, placental samples were collected, and the total length of processing time was less than 15 min. 3 biopsies (2 cm ²) of the placenta were taken (center, mid, and the edge of the placenta) avoiding areas of infarcts and thrombosis.	↑ H ₂ O ₂ levels in maternal serum early at 10–15 weeks, at term, and in the placenta of women with PE.
Bernardi et al. 2012 [29]	Case-control	PE: 33 Control: 33	Maternal section of the placenta	↑ Oxidative damage (protein carbonyls and TBARS) → PE
Ozturk et al. 2011 [30]	Prospectively controlled study	PE: 34 Control: 27	Placental samples (4 g) were taken in full-thickness after placental delivery.	↓ TAS, ↑ TOS and OSI → PE
Rani et al. 2010 [31]	Case-control	PE: 30 Control: 30	Approximately, 40–60 g of placental tissue were collected (10–15 g each from four different areas)	↑ lipid peroxidation (MDA) and ↓ GSH → PE
Mistry et al 2010 [32]	Cross-sectional	PE: 12 Control: 12	Samples were collected from 3 standardized locations: 1 cm from the cord insertion, 1 cm from the periphery, and	↓ GPx → PE

			midway between the two.	
Teran et al 2009 [33]	Cross-sectional	PE: 63 Control: 60	After delivery of the placenta, a 2–3-g sample from the maternal side was obtained (any infarcted area was avoided)	↑ NO → PE
Aris et al 2009 [34]	Prospective cohort	Control: 20 PE: 20	Three biopsies (2 cm ²) of the placenta were taken (center, mid and edge of the placenta)	↑ H ₂ O ₂ → PE ↓ NO → PE ↑ H ₂ O ₂ was inversely correlated with a lowered NO production.
Wikström et al. 2009 [35]	Case-control	EO PE: 18 LO PE: 18 Early Control: 12 Late control: 18	Collected 4-6 small pieces from separate cotyledons	↑ 8-iso-PGF _{2α} and PAI-1 to PAI-2 ratio → PE
Mistry et al 2008 [36]	Cross-sectional	PE: 25 Control: 27	Full-depth placental tissue samples were collected three standardized locations (1 cm from the cord, 1 cm from the periphery, and the middle of the two)	↓ GPx → PE Reduced GPx could be associated with increased generation of toxic lipid peroxides contributing to endothelial dysfunction and PE.
Biri et al 2007 [37]	Cross-sectional	PE: 13 Control: 13	-	↓ SOD and CAT → PE ↑ GPx and XO → PE
Zamudio et al. 2007 [38]	Cross-sectional	LA: 12 HA: 18	Placentas were collected immediately following delivery and washed in cold PBS until the majority of blood was cleared. Fresh tissue was sampled from multiple sites within the villous core and flash-frozen in liquid nitrogen	↓ GPx, thioredoxin, and thioredoxin reductase activity → HA Decreased antioxidant activity was not associated with increased OS: lipid peroxide content and protein carbonyl formation were lower at HA. Lowered placental concentrations of antioxidants may

				contribute to the susceptibility of women living at HA to the development of PE.
Açikgoz et al 2006 [39]	Cross-sectional	PE:17 Control:20	-	<p>↑ angiotensin-converting (ACE) enzyme activity and MDA → PE</p> <p>↓Zn and Cu → PE</p> <p>There was a negative correlation between ACE activity and Zn concentration.</p>
Kim et al, 2006 [40]	Cross-sectional	PE:18 Control:23	-	<p>↑ lipid peroxide and ↓ TRAP and ascorbic acid → PE</p>
Vanderlelie et al. 2005 [41]	Case-control	PE:20 Control: 18	-	<p>↓SOD, thioredoxin reductase, thioredoxin and GPx → PE</p> <p>↑ lipid peroxidation, protein carbonyls → PE</p>
Atamer et al. 2005 [42]	Cross-sectional prospective	PE: 32 Control:28	2 to 3g sample of tissue was removed from the center of the placenta.	<p>↑MDA → PE</p> <p>↓ GPx and GSH → PE</p>
Wiktor et al. 2004 [43]	Cross-sectional	Severe PE without IUGR: 17 Severe PE and IUGR: 18 Control: 18	All samples (approximately 1 g) were taken from the mid-disc region of the chorionic plate	<p>↑8-OH-dG → severe PE and IUGR.</p> <p>The results indicate a positive correlation between the severity of PE and the degree of OS and corroborate previous studies suggesting ROS is involved in the pathophysiology of PE.</p>
Zeteroglu et al. 2004 [44]	Cross-sectional	PE:20 Control:16	-	<p>↑MDA → PE</p>
Serdar et al. 2003 [45]	Cross-sectional	Mild PE: 30 Severe PE: 30 Control: 50	The placental bed knife technique was performed for decidua basalis sampling.	<p>↓ antioxidant vitamins → severe and mild PE</p>

Madazli et al. 2002 [46]	Cross-sectional	PE: 34 Control: 33	Placental tissue samples from multiple sites were obtained	<p>↑lipid peroxides → PE</p> <p>↓ SOD and GSH → PE.</p> <p>The magnitude of OS and antioxidant changes correlate well with diastolic blood pressure.</p>
Zusterzeel et al. 2001 [47]	Case-control	Severe PE without HELLP: 25 PE with HELLP: 25 Control: 22	-	<p>↑protein carbonyls and ↓FRAP → PE with HELLP syndrome.</p>
Shaamash et al. 2001 [48]	Cross-sectional	PE: 31 Control:32	Two tissue blocks of the whole placenta were cut from the lower third of the cotyledons of each placenta	<p>↑NOS and NO → PE and eclampsia than control; this increase was directly related to the severity of this disorder.</p>
Palan et al. 2001 [49]	Cross-sectional	PE: 19 Control: 22	Placental tissue samples were full-thickness excluding amniotic membranes	<p>↓ β-carotene, lycopene, and canthaxanthin → PE.</p> <p>Lower placental tissue and maternal serum carotenoid levels in women with PE suggest that OS or a dietary antioxidant influence might affect the pathophysiology of PE.</p>
Bowen et al 2001 [50]	Case-control	PE: 21 Control: 29 Eclampsia: 6	-	<p>Placental concentrations of lipid peroxide, MDA, and ascorbic acid were not different in PE as compared with normal pregnancy.</p>
Staff et al 1999 [51]	Case-control	PE: 16 Control: 15	Placental samples were excised from the central parts of placenta, omitting the decidual layer of the placenta	<p>↑free 8-iso-PGF₂α → PE</p>
Zusterzeel et al 1999 [52]	Case-control	PE: 22 Control: 21	-	<p>↓ GST → PE</p> <p>Reduced levels of GST class pi in PE might indicate a decreased</p>

				capacity of the GSH/GST detoxification system.
Gratacos et al. 1999 [53]	Case-control	PE: 34 Uncomplicated chronic HAS: 20 Chronic HAS complicated by superimposed PE: 11 Control: 36	-	<p>↑Lipid peroxides → PE</p> <p>↓ vit. E → PE and superimposed PE, as compared to controls. T</p> <p>The group of uncomplicated chronic hypertension presented with similar values of lipid peroxides and vit. E to controls.</p>
Knapen et al 1999 [54]	Case-control	PE: 14 Control: 17	One representative fragment of the placenta (infarcted sites were avoided) and one fragment of decidua was collected	<p>↑ GSH and GPx → PE</p> <p>This result may be probably as a compensatory mechanism to prevent further damage by peroxides, (oxygen) radicals or other toxins in the placenta or the fetoplacental interface.</p>
Wiktor et al 1998 [55]	Case-control	Severe PE: 24 Severe PE and IUGR: 21 Control: 22	-	↓ SOD → PE
Bogges et al 1998 [56]	Case-control	PE: 10 Control: 7	Full-thickness tissue samples were taken from within 3 cm of the insertion of the umbilical cord and from the outermost 3 cm of the placental disc margin. Areas suggestive of infarction or abruption were specifically avoided	Placental EC-SOD distribution and activity is not different between PE and normal women, suggesting that EC-SOD is not involved in the vascular changes seen in PE.
Mutlu-Türkog̃lu	Case-control	PE:17 Control:10	-	↑TBARS → PE

et al 1998 [57]				<p>↓ GSH, vit.C, GPx, GST and SOD → PE</p> <p>PE is associated with an imbalance between lipid peroxides and the antioxidant system.</p>
Neves et al 1997 [58]	Case-control	PE: 9 Control: 17	-	<p>↑ GSH and GSSG → PE</p> <p>The increased concentration of the two forms of GSH in PE placentas may result from less use of GSH either by GPx or other protective mechanisms against cell damage.</p>
Poranen et al. 1996 [59]	Case-control	PE: 15 Control: 15	-	<p>There were no significant differences in the activity of GPx, GST, or vit.E level between the study groups.</p> <p>↑Lipid peroxidation → PE</p> <p>↓ SOD → PE</p>
Wang et al. 1996 [60]	Case-control	PE: 12 Control: 16	-	<p>↓ CuZn-SOD, GPx, vit.E → PE</p> <p>↑CAT → PE</p>
Walsh et al 1993 [61]	Case-control	PE: 11 Control: 11	Placental tissue was gently separated by sterile dissection from different cotyledons, excluding chorionic and basal plates, minced with scalpel blades	<p>↓ GPx → PE</p> <p>↑lipid peroxide and thromboxane → PE</p> <p>Inhibition of GPx activity in control placentas results in significantly increased production rates of lipid peroxides and thromboxane.</p>
Wang et al. 1992 [62]	Case-control	PE:8 Control: 9	-	<p>↑Lipid peroxides → PE</p>

Legend: Cu: copper; CuZn-SOD: copper and zinc-dependent superoxide dismutase; EO: early onset; EOS: early onset severe; FGR: fetal growth restriction; FRAP: ferric reducing antioxidant power; GPx: glutathione peroxidase; GR: glutathione reductase; GSH: reduced glutathione; GSSG: oxidized glutathione; GST: glutathione S transferase; HAS: systemic arterial hypertension; HELLP: hemolysis, elevated liver enzymes and thrombocytopenia; H₂O₂: hydrogen peroxide; HP: health pregnant; IQR: interquartile range; IUGR: intrauterine growth restriction; LO: late onset; LOS: late onset severe; MDA: malondialdehyde; Mn: manganese; O₂^{•-}: radical anion superoxide; OS: oxidative stress; OSI: oxidative

stress index; PE: preeclampsia; ROS: restive oxygen species; Se: selenium; SOD: superoxide dismutase; TAS: total antioxidant status; TBA: tiobarbituric acid; TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances; TOS: total oxidant status; TRAP: peroxy radical trapping capacity; Vit.C: vitamin C; Vit.E: vitamin E; XO: xanthine oxidase; Zn: zinc; 8-iso-PGF₂ α : 8-iso-prostaglandin F₂ α .

Table 2: Oxidative stress biomarkers evaluated by each study included in the present meta-analysis.

Author	Oxidative stress biomarker																										
	MDA	H2O2	8-OHdG	TBA RS	Lipid peroxide	Isopropane	TOS	Super oxide	Carbonyl protein	NO	SOD	CAT	GPx	GST	GR	TAS	XO	TR	GSH	GSSG	Vit.C	Vit.E	Zn	Cu	Se	Mn	Vit.A
Al-Sheikh et al. 2018 [20]	X	X						X	X		X		X	X	X								X	X	X	X	
Brien et al. 2017 [21]						X																					
Yoshida et al. 2017 [22]			X																								
Daglar et al. 2016 [23]							X									X											
D'Souza et al. 2016 [24]											X		X														
Bernardi et al. 2015 [25]											X																
Sahay et al. 2015 [26]	X											X	X														
Can et al. 2014 [27]	X																		X								
Leblanc et al. 2012 [28]		X																									
Bernardi et al. 2012 [29]	X								X																		
Ozturk et al. 2011 [30]							X												X								
Rani et al. 2010 [31]	X										X									X							
Mistry et al. 2010 [32]													X														
Teran et al. 2009 [33]									X																		
Aris et al. 2009 [34]		X							X																		
Wikström et al. 2009 [35]						X																					
Mistry et al. 2008 [36]													X														
Biri et al. 2007 [37]											X	X	X				X										
Zamudio et al. 2007 [38]	X								X		X		X					X									
Açikgoz et al. 2006 [39]	X																					X	X				
Kim et al., 2006					X																X	X					X

malondialdehyde; Se: selenium; SOD: superoxide dismutase; TAS: total antioxidant status; TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances; TOS: total antioxidant status; TR: thioredoxin reductase; Vit.A: vitamin A; Vit.C: vitamin C; Vit.E: vitamin E; XO: xanthine oxidase; Zn: zinc.

Table 3: Evaluation of the quality of the evidence through the tool –Newcastle-Ottawa.

SOURCE / YEAR	SCORE	RESULT
<u>Al-Sheikh</u> et al. 2018 [20]	8	Good
Brien et al. 2017 [21]	8	Good
Yoshida et al. 2017 [22]	8	Good
Daglar et al. 2016 [23]	8	Good
D'Souza et al. 2016 [24]	8	Good
Bernardi et al 2015 [25]	7	Good
Sahay et al. 2015 [26]	8	Good
Can et al. 2014 [27]	8	Good
Leblanc et al. 2012 [28]	5	Poor
Bernardi et al. 2012 [29]	8	Good
Ozturk et al. 2011 [30]	8	Good
Rani et al. 2010 [31]	8	Good
Mistry et al. 2010 [32]	5	Poor
Teran et al. 2009 [33]	7	Good
Aris et al. 2009 [34]	8	Good
Wikström et al. 2009 [35]	8	Good
Mistry et al. 2008 [36]	5	Poor
Biri et al. 2007 [37]	3	Poor
Zamudio et al. 2007 [38]	3	Poor
Açikgoz et al. 2006 [39]	7	Good
Kim et al. 2006 [40]	8	Good
Vanderlelie et al. 2005 [41]	8	Good
Atamer et a.l 2005 [42]	8	Good
Wiktor et al. 2004 [43]	8	Good
Zeteroglu et al. 2004 [44]	8	Good
Serdar et al. 2003 [45]	8	Good
Madazli et al. 2002 [46]	8	Good
Zusterzeel et al. 2001 [47]	8	Good
Shaamash et al. 2001 [48]	8	Good
Palan et al. 2001 [49]	8	Good
Bowen et al. 2001 [50]	5	Poor
Staff et al. 1999 [51]	5	Poor
Zusterzeel et al. 1999 [52]	8	Good
Gratacos et al. 1999 [53]	8	Good
Knapen et al. 1999 [54]	8	Good
Wiktor et al. 1998 [55]	5	Poor
Bogges et al. 1998 [56]	8	Good

Mutlu-Türkog̃lu et al. 1998 [57]	8	Good
Neves et al. 1997 [58]	5	Poor
Poranen et al. 1996 [59]	5	Poor
Wang et al. 1996 [60]	5	Poor
Walsh et al. 1993 [61]	8	Good
Wang et al. 1992 [62]	5	Poor

Artigo 3 - O artigo foi aceito pela revista Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health

Pre-eclampsia is associated with later kidney chronic disease and end-stage renal disease: systematic review and meta-analysis of observational studies

Ferreira, Raphaela Costa¹

Fragoso, Marilene Brandão Tenório²

Tenório, Micaely Cristina dos Santos³

Silva, João Victor Farias³

Bueno, Nassib Bezerra³

Goulart, Marília Oliveira Fonseca³

Oliveira, Alane Cabral Menezes de⁴

¹ Institute of biological Sciences and Health, Federal University of Alagoas.

² Northeast Network of Biotechnology, Federal University of Alagoas focal point.

³ Institute of Chemistry and Biotechnology, Federal University of Alagoas.

⁴ Nutrition College, Federal University of Alagoas.

Corresponding author: Alane Cabral Menezes de Oliveira. Nutrition College, Federal University of Alagoas. Campus A. C. Simões, BR 104 Norte, Km 96,7, Tabuleiro dos Martins. ZIPE CODE: 57.072-970. Maceio, Alagoas, Brazil. Phone: (82) 98733-1950. E-mail: alanecabral@gmail.com.

Abstract

Objectives: To assess whether there is a risk of kidney disease during the postpartum period of women who had preeclampsia (PE). **Study design:** Observational trials were searched in the PubMed, Science Direct, Clinical trials, Cochrane, LILACS and Web of Science databases. The data extracted from the studies were systematized, and the risk of bias was evaluated for each of them. Meta-analyses were performed with studies that evaluated chronic kidney disease (CKD) and end-stage renal disease (ESRD), pooling the natural logarithms of the adjusted risk measures and the confidence intervals of each study in a random effects model. **Results:** Of the 4149 studies evaluated, 35 articles were included in the review, of which 3 of the CKD and 6 of the ESRD presented the necessary outcomes to compose the meta-analysis. A formal registration protocol was included in the PROSPERO database (number: CRD42019111821). There was a statistically significant difference between the development of CKD (hazard ratio (HR): 1.82, confidence interval to 95% (95% CI): 1.27 - 2.62, $P < 0.01$) and ESRD (HR: 3.01, confidence interval to 95% (95% CI): 1.92 - 4.70, $P < 0.01$) in postpartum women affected by PE. **Conclusions:** PE was considered a risk factor for the onset of CKD and ESRD in the postpartum period. Thus, more research is needed to clarify the underlying mechanisms of this association, and to assist in determining the most appropriate and effective clinical conduct to prevent and/or treat such complications.

Keywords: Pregnant women, kidney failure, proteinuria, kidney disease.

INTRODUCTION

Preeclampsia (PE) is a specific pregnancy condition that affects 4 to 8% of all pregnancies and has a significant impact on public health, accounting for approximately 14% of maternal mortality in the world [1,2].

PE is a multisystemic disease whose pathophysiology has not yet been fully elucidated, but the theory of poor placentation is the most accepted basis for the disease, together with oxidative stress, a systemic inflammatory response and endothelial dysfunction [3]. Its signs and symptoms appear from the 20th gestational week, and its diagnosis occurs through elevated systolic/diastolic blood pressure ($\geq 140/90$ mmHg) accompanied by proteinuria or thrombocytopenia, renal failure, liver failure, pulmonary oedema, and cerebral or visual disorders [4].

Studies have identified the relationship between PE and the onset of long-term diseases[5,6], such as kidney disease [7,8,9,10,11,12,13]. Endothelial dysfunction, characteristic of PE, can remain for long periods of time, affecting renal function and thus compromising glomerular dynamics and barrier functions, a fact that would justify the association of the disease with renal outcomes. In addition, several biochemical markers have already been analysed and are associated with renal function and the occurrence of diseases in the presence of PE. All of these facts corroborate the complexity of this disease and its role among the main causes of maternal morbidity and mortality in the short and long term [14].

Previously, a similar systematic review was conducted by McDonald et al.[15], and more recently, a meta-analysis conducted by Covella et al.[16] investigated the long-term renal effects of PE and showed that only end-stage renal disease (ESRD), but not chronic kidney disease (CKD), were associated with PE. However after the publication of this last meta-analysis Kristensen et al.[7] published a cohort study with 1 072 330 women assessing the development of CKD after PE, and found significant association between these conditions, which justifies the conduction of an updated meta-analysis. In addition, Khashan et al.[17] showed in their cohort study that the PE was significantly associated as an important risk factor for subsequent ESRD. Considering that two large studies were published after the meta-analysis of Covella et al.[16], a new literature search investigating the risk of renal disease in women with a history of PE was needed to update and include these additional findings in order to support the necessary evidence for decision-making for prevention and early diagnosis in clinical practice.

In this context, the present systematic review and meta-analysis aims to assess whether there is a risk of kidney disease during the postpartum period in women who had PE.

METHODS

This meta-analysis was developed according to the guidelines of the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses (PRISMA). Database research, data extraction, and risk of bias assessment were independently performed by two researchers. Any disagreements were solved by consensus. A formal registration protocol was included in the PROSPERO database (number: CRD42019111821).

Search strategy and selection of studies

The search was conducted until October 5, 2019 in the PubMed, Science Direct, Cochrane, LILACS, Clinical trials and Web of Science databases, considering the following keywords: chronic renal insufficiency OR nephritis OR nephrosis OR perinephritis OR kidney insufficiency, chronic OR chronic kidney insufficiency OR chronic kidney disease OR disease, chronic kidney disease OR chronic disease OR chronic renal disease OR renal disease, chronic OR renal insufficiency OR kidney disease OR nephrotic syndrome OR (renal failure) AND (preeclampsia OR pre-eclampsia OR preeclampsia OR pregnan * toxem * OR eph complex OR eph toxem * OR preeclampsia eclampsia), having been considered for analysis in all occurrences resulting from this search.

In addition, we did not use language filters or year of publication, being that the search was conducted by two researchers independently. Next, the titles for exclusion of duplicate papers were evaluated and discarded if they did not meet the following eligibility criteria: a) studies that evaluated the development of renal disease in the postpartum period; b) articles on humans; and c) studies performed with pregnant women with PE, regardless of age, risk factors or associated comorbidities. The following articles were excluded: a) studies carried out in vitro or with experimental animals; b) articles with twin pregnancy; c) clinical cases; d) studies that performed any type of supplementation in the included women; f) studies with a different outcome from acute renal disease (ARD) or CKD or ESRD, and g) reviews.

Subsequently, the abstracts of all of the articles of the initial search were read, and the reports that went through this phase were read in full. Finally, the articles read in full that met the inclusion criteria were considered for this review.

Data extraction

The following data were included in the articles: type of study, sample size, age of the pregnant women, type of kidney disease, time of disease onset, duration of study for those of prospective cohort, prevalence of renal disease and main clinical findings. The primary

endpoint considered was the development of CKD or ARD or ESRD since, among the outcomes evaluated by the included studies, they had a greater impact on the health of the affected in addition to being the more homogeneous outcomes, thus making them comparable. For the purpose of this meta-analysis, studies focusing on long-term ESRD, those evaluating CKD (defined based on glomerular filtration rate [GFR] and the presence of proteinuria) were separated, as ESRD is a later condition of CKD, being a consequence of the latter.

Assessment of risk of bias and quality of evidence

The quality evaluation of the articles was performed according to the Newcastle-Ottawa Scale [18]. Two independent researchers evaluated the quality of the studies in three different categories: selection, comparability and outcome. Each category was evaluated as follows: good, fair and poor quality. Each study was then given a global rating for its quality.

Statistical analysis

The natural logarithms of the adjusted risk measures (risk ratio (RR), odds ratio (OR) or hazard ratio (HR)) of developing PE and the confidence intervals of each study were pooled together in a meta-analysis. Whenever a study did not describe the RR, OR or HR, it was calculated. Considering the predicted high heterogeneity, the Der Simonian and Laird random effects model was used, in conjunction with the Mantel–Haenszel model for estimation of heterogeneity. Heterogeneity was considered important when I^2 was $>50\%$. If necessary, a sensitivity analysis was performed by removing the studies one by one to investigate the origin of the divergence. An alpha level of 5% was adopted. All analyses were conducted using Stata v12.0 (StataCorp, College Station, TX).

RESULTS

Search Results

After the search, 35 articles met the inclusion criteria to compose the qualitative analysis, where 9 evaluated only ARD; 3 microalbuminuria; 7 several parameters together such as creatinine, urate, albumin, microalbuminuria, and GFR; 4 more general diseases such as glomerular diseases, and diabetic nephropathy; 2 death from kidney disease and 1 hospitalization for CKD. Three articles that evaluated CKD and 6 articles that evaluated ESRD were included in the meta-analysis, considering the similarity of the outcomes analysed by each study. The flow diagram of the study selection is presented in Figure 1.

Study Characteristics

Table 1 shows the main characteristics of the included studies in relation to the development of some type of renal disease after a certain time of diagnosis of PE. The included studies were retrospective or prospective cohort, prospective and case control type. As for sample size, studies ranged from 22 to 1.072.330, including healthy pregnant women with PE. The mean age of the women ranged from 24.1 years to 66.7 years at the end of the follow-up study. Regarding the type of evaluated kidney disease, the development of CKD, ESRD and ARD was observed in the analysed studies. The time of onset of kidney disease, as well as the duration of the studies, ranged from the immediate postpartum period up to 40 years of follow-up of the women studied.

It is worth noting that the included studies, despite evaluating several outcomes, present high heterogeneity in relation to the methodological parameters, which made it difficult to perform meta-analyses including other evaluated outcomes. The incidence of ESRD in women who had PE ranged from 1.85 to 14.5, and for CKD ranged from 0.8 to 5.2.

Assessment of risk of bias and quality of evidence

According to the Newcastle-Ottawa tool, 29 out of 35 articles were found to be of good quality (Table 2).

Meta-analysis

Chronic Kidney Disease. CKD was evaluated in 3 studies, with a total of 1.090.392 individuals. The complete analysis is shown in Figure 2. There were 1.048.714 individuals in the control groups and 41.678 individuals in the groups with PE (HR: 1.82, 95% CI: 1.27-2.62, $P < 0.01$), $I^2 = 66.0\%$, $P = 0.05$).

End-stage Kidney Disease. ESRD was evaluated in 6 studies, with a total of 3.679.703 individuals. The complete analysis is shown in Figure 3. There were 3.513.437 individuals in the control groups and 166.266 individuals in the groups with PE (HR: 3.01, 95% CI: 1.92-4.70, $P < 0.01$), $I^2 = 88.9\%$, $P < 0.00$).

Acute Renal Disease. It was not possible to perform a meta-analysis with the studies evaluating ARD due to the large methodological differences in the included studies, which compromised the extraction and analysis of the data of interest.

DISCUSSION

The renal repercussions after development of PE are variable and therefore difficult to measure, since there are no practical criteria for identifying such conditions. Despite the high heterogeneity in the analysis, which may be justified by the fact that the included studies present many methodological differences, turning it difficult to combine the results of the

studies, the present systematic review with meta-analysis showed a higher risk of developing CKD and ESRD in postpartum women after being affected by PE.

Regarding the methodological diversity, in the studies that evaluated the CKD, one can detect variation in the number of pregnant women evaluated in each study (10.314 to 1.072.330 women, being with PE 242 to 40.625) and the time of onset of CKD, which ranged from 3.0 to 43.6 years after childbirth. This last variable causes difficulty in comparing the studies, since some of them did not report the time of onset of renal disease in the postpartum period. In the studies of Kristensen et al [7]; Männistö et al.[12]; and Ayansina et al.[41], which were those included in our metanalysis, women who had Specific Hypertensive Gestation Syndromes (SHGS) had a risk ranging from 1.27 to 2.62 times greater for developing long-term CKD (ranging from 3 years to 43.6 years postpartum) compared to those without SHGS. In the order hand, in Paauw et al.[45], the presence of hypertensive gestational diseases did not significantly increase the incidence of CKD in the postpartum period, however the study by Paauw et al.[45] was not included in the present meta-analysis, because did not bring results direct to PE but to hypertensive disorders in pregnancy.

Regarding ESRD, there was also big variation in the number of pregnant women evaluated in each study (554 to 1.358.543 women, being with PE 59 to 65.751) and the time of onset of ESRD, which ranged from 3.9 to 45 years after childbirth. In the study by Vikse et al.[29] among pregnant women who had PE and became pregnant three or more times, the risk of developing ESRD was 6.3 times higher (95% CI, 4.1 to 9.9), and those who had two or three pregnancies, the risk increased 15.5-fold (95% CI, 7.8 to 30.8); therefore, depending on the number of pregnancies, this risk may vary.

As previously cited, Covella et al.[16] published a meta-analysis investigating the long-term renal effects of PE and showed that only ESRD, but not CKD, were associated with PE. We believe that our CKD meta-analysis enhances the analysis performed by Covella et al.[16] on the association between PE and CKD, based on the following points:(A) Recently, Kristensen et al.[7] published a new cohort study and showed an increased risk of CKD for women diagnosed with PE; (B) Covella et al. [16] used only unadjusted values for risk ratio, but most of the studies included in the meta-analysis reported an adjusted measure for risk values, and its use may enhance the precision of the findings; (C) McDonald et al.[15], which was included by Covella et al. [16] did not show adjusted values for risk and included only women with dysglycemia, which may induce substantial heterogeneity in the analysis; and (D) Wang et al.[11], also included by Covella et al.[16], does not show the isolated analysis of PE and CKD, but only an analysis of hypertensive disorders of pregnancy and CKD, therefore

these articles were not included in the present meta-analysis. Our new analysis indicates much less heterogeneity ($I^2=66\%$) and significant effect size (pooled HR:1.82 [95% CI: 1.27-2.62, $P<0.01$]), based only in cohort studies that reported an adjusted HR, enhancing confidence in the findings.

Regarding ESRD in the present review, it was also observed that PE was a risk factor for ESRD, corroborating the findings of Covella et al.[16], but some points should be considered. In the present review, we included 4 more studies [13,17,26,29], presenting an heterogeneity of $I^2 = 88.9\%$ while in Covella et al.[16] study, the I^2 was 95%. Another aspect that could be discussed in this review, which made it difficult to compare the included research data, was the absence of a control group in some of the studies, making a better comparison with the PE group impossible, as seen in the study by Van Balen et al.[8]. In addition, considering the heterogeneity of the populations involved in the included studies, it is possible that there are different risks for the incidence of kidney disease among them, as highlighted by Wang et al. [11].

Regarding the evaluation of the quality of the evidence, 6 studies were classified as being of low quality. This condition may be justified by the fact that the studies did not clarify how the unexposed cohort was selected, the result of interest was not present at the beginning of the study, the analysis was not controlled for possible confounders, the follow-up was not sufficient for the outcomes to occur, and the loss of follow-up for a considerable portion of the sample ($> 80\%$) in each study was considered of low quality individually. Still stands out, in the studies analyzed in the present review, most are retrospective cohort. The problems of retrospective studies may be information bias and the inability to control confounding variables (lack of information).

Regarding ARD, the analyses were compromised by the difficulty of collecting information in the studies. Therefore, for a more complete approach, it is necessary to conduct more research with a deepening of causal relation, as well as with similar objectives and methods, in order to allow for the comparison of them.

In this context, studies by Deruelle et al.[21], Eswarappa et al. [9] and Huang et al. [10] did not present the RR, HR or OR, and did not conduct multivariable analysis. Furthermore, Eswarappa et al.[9] and Huang et al.[10] reported a low incidence of ARD in their studies, being justified by the absence of patients with a history of renal disease in the sample.

Hence, it is emphasized that the kidneys play a fundamental role in pregnancy progression, including the ESRD. Under normal conditions, physiological changes, such as

glomerular hyperfiltration and a 40-60% increase in glomerular filtration rate, are due to necessary haemodynamic changes and are related to multisystem interactions, such as the release of nitric oxide by the placenta that prevents vasoconstriction through the action of Angiotensin I and II receptors[46].

When there are changes that promote the incidence of gestational diseases, such as PE, the imbalance in the serum concentrations of anti-angiogenic and pro-angiogenic factors compromises the functioning of several organs, especially of the kidneys that have proteinuria as one of the diagnostic criteria of PE, being characterized by ≥ 0.3 g of protein in a 24-hour urine specimen or a urine dipstick result of $\geq 1+$). Due to the hypoxic condition of the placenta of pregnancy with PE, there is a greater expression and release of antiangiogenic factors, such as soluble tyrosine kinase 1 and soluble endoglin, which bind to pro-angiogenic factors, such as vascular endothelial growth and placental growth, and inhibit their expression by preventing them from binding to their receptors present on the vascular endothelial cell membrane [47].

The endothelial dysfunction caused by the above imbalance promotes changes in the renal function, such as the podocyte lesion and glomerular endotheliosis, when there is an increase in sFlt-1. The podocyte is a highly specialized cell that is important for selective permeability because it is part of the glomerular filtration barrier. When damaged, it loses its adhesion to the basal glomerular membrane, is excreted through the urine, and promotes functional and morphological alteration of the kidney that favours the appearance of glomerulosclerosis, a progressive disease that can lead to CKD [48].

In PE, there is a change in the glomerular barrier similar to that found in renal diseases of other primary sources, leading to an increase in the excretion of proteins such as albumin alone or in combination with other macromolecules. Several other markers, such as proteinuria, microalbuminuria and glomerular filtration rate, are mentioned among the alterations and renal damage caused by PE and corroborate the complexity of this disease and its responsibility among the main causes of maternal morbidity and mortality, in the short and long term [49].

In addition to the meta-analysis showing that PE in pregnancy was a risk factor for the onset of CKD and ESRD in the postpartum period, that after a pregnancy complicated by the disease, renal changes may persist, such as CKD, ESRD, ARD, and changes in renal injury markers, such as microalbuminuria, a marker of renal endothelial injury, resulting from local or systemic vascular damage.

Such impairment can be explained by hyperfiltration, which is characterized by an increase in glomerular capillary pressure and may induce progressive renal damage in the long term [50]. Thus, these findings demonstrate the need for postpartum monitoring. Future research is needed to better understand the mechanisms underlying the relationship between PE and subsequent ARD, ESRD and CKD and to guide the optimal clinical follow-up of women with a history of this disease during pregnancy.

Conclusion

PE was considered a risk factor for the onset of CKD and ESRD in the postpartum period. Thus, more research is needed to determine which women are more likely to develop kidney disease after PE, as well as to clarify the underlying mechanisms of this association and to assist in determining the most appropriate and effective clinical approach to prevent and/or treat such complications.

AUTHOR CONTRIBUTION

The authors' responsibilities were as follows: A.C.M.O. designed the study; N.B.B. analyzed data and performed statistical analysis; R.C.F., J.V.S.F.A., M.C.S.T. and M.B.T.F. wrote the paper; N.B.B. and A.C.M.O. had primary responsibility for the final content; M.O.F.G. critically revised the paper for intellectual content and provided final approval of the manuscript; all the authors contributed to the revision of the article for important intellectual content and approved the final manuscript.

FUNDING

The authors wish to thank the Health Ministry of Brazil; the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq); the Foundation for Research Support of the State of Alagoas (FAPEAL), through the SUS Research Program (PPSUS).

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

[1] L. Ghulmiyyah, B. Sibai, Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia, *Semin Perinatol.* 36 (2012) 56-59. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2011.09.011>.

- [2] L. Say, D. Chou, A. Gemmill, O. Tunçalo, A.B. Moller, J. Danieks J, et al., Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis, *Lancet Glob Health*. 2 (2014) 323-333. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(14\)70227-X](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(14)70227-X).
- [3] D. Enkhmaa, D. Wall, P.K. Mehta, J.J. Stuart, J.W. Rich-Edwards, C.N.B. Merz, C. Shufelt, Preeclampsia and Vascular Function: A Window to Future Cardiovascular Disease Risk, *Journal of Women's Health*. 25 (2016) 284–291. <https://doi.org/10.1089/jwh.2015.5414>.
- [4] American College of Obstetricians and Gynecologists, Task Force on Hypertension in Pregnancy, ACOG Hypertension in Pregnancy Task Force, Washington, DC: American College of Obstetricians and Gynecologists (2013) 1-100.
- [5] W. Hermes, A. Franx, M.G. van Pampus, K.W. Bloemenkamp, M.L. Bots, J.A. van der Post, et al., Cardiovascular risk factors in women who had hypertensive disorders late in pregnancy: a cohort study, *American journal of obstetrics and gynecology*. 208 (2013) 474.e1-8. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2013.02.016>.
- [6] A. Portelinha, L. Belo, A.S. Cerdeira, J. Braga, E. Tejera, F. Pinto, et al., Lipid levels including oxidized LDL in women with history of preeclampsia, *Hypertension in pregnancy*. 29 (2010) 93-100. <https://doi.org/10.3109/10641950902968593>.
- [7] J.H. Kristensen, S. Basit, J. Wohlfahrt, M.B. Damholt, H.A. Boyd, Pre-eclampsia and risk of later kidney disease: nationwide cohort study, *BMJ*. 365 (2019) 11516. <https://doi.org/10.1136/bmj.11516>
- [8] V.A. Lopes van Balen, J.J. Spaan, T. Cornelis, M.E.A. Spaanderman, Prevalence of chronic kidney disease after preeclampsia, *Journal of nephrology*. 30 (2017) 403-409. <https://doi.org/10.1007/s40620-016-0342-1>.
- [9] M. Eswarappa, M. Rakesh, P. Sonika, K. Snigdha, M. Midhun, K. Kaushik, et al., Spectrum of Renal Injury in Pregnancy-induced Hypertension: Experience from a Single Center in India, *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 28 (2017) 279-284. <https://doi.org/10.4103/1319-2442.202790>.
- [10] C. Huang, S. Shanying Chen, Acute kidney injury during pregnancy and puerperium: a retrospective study in a single center, *BMC Nephrology*. 18 (2017) 146. <https://doi.org/10.1186/s12882-017-0551-4>.
- [11] I.K. Wang, C.H. Muo, Y.C. Chang, C.C. Liang, C.T. Chang, S.Y. Lin, et al., Association between hypertensive disorders during pregnancy and end-stage renal disease: a population-based study, *CMAJ*. 185 (2013) 207-213. <https://doi.org/10.1503/cmaj.120230>.
- [12] T. Männistö, P. Mendola, M. Vaarasmaki, M.R. Jarvelin, A.L. Hartikainen, A.P.E. Suvanto, Elevated Blood Pressure in Pregnancy and Subsequent Chronic Disease Risk,

- Circulation. 127 (2013) 681–690. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.128751>.
- [13] C.C. Wu, S.H. Chen, C.H. Ho, F.W. Liang, C.C. Chu, H.Y. Wang, et al., End-stage renal disease after hypertensive disorders in pregnancy, *Am J Obstet Gynecol.* 210 (2014) 147.e1-8. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2013.09.027>.
- [14] I. Behrens, S. Basit, M. Melbye, J.A. Lykke, J. Wohlfahrt, H. Bundgaard, et al., Risk of post-pregnancy hypertension in women with a history of hypertensive disorders of pregnancy: nationwide cohort study, *BMJ.* 358 (2017) j3078. <https://doi.org/10.1136/bmj.j3078>.
- [15] S.D. McDonald, Z. Han, M.W. Walsh, H.C. Gerstein, P.J. Devereaux, Kidney disease after preeclampsia: a systematic review and meta-analysis, *American Journal of Kidney Diseases.* 55 (2010) 1026-1039. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2009.12.036>.
- [16] B. Covella, A.E. Vinturache, G. Cabiddu, R. Atinni, L. Gesualdo, E. Versino, et al., A systematic review and meta-analysis indicates long-term risk of chronic and end-stage kidney disease after preeclampsia, *Kidney International, in press*, (2019) 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2019.03.033>.
- [17] A.S. Khashan, M. Evans, M. Kublickas, et al. Preeclampsia and risk of end stage kidney disease: A Swedish nationwide cohort study [published correction appears in *PLoS Med.* 16 (2019) (7):e1002875. Published 2019 Jul 30. doi:10.1371/journal.pmed.1002875.
- [18] New Castle Ottawa. Available: http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp. Access: 01.06.19.
- [19] J. Bar, B. Kaplan, C. Wittenberg, U. Erman, L. Boner, Z. Ben- Rafael, et al., Microalbuminuria after pregnancy complicated by pre-eclampsia. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 14 (1999) 1129-1132.
- [20] A.G. Shammash, J.F. Maayah. Hypertension and its relation to renal function 10 years after pregnancy complicated by pre-eclampsia and pregnancy induced hypertension. *Saudi Medical Journal.* 21 (2000) 190-192.
- [21] P. Deruelle, E. Coudoux, A. Ego, V. Houfflin-Debarge, X. Codaccioni, D. Subtil, Risk factors for post-partum complications occurring after preeclampsia and HELLP syndrome: A study in 453 consecutive pregnancies, *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* 125 (2006) 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2005.07.011>.
- [22] K.H. Lampinen, M. Rönnback, P.H. Groop, R.J. Kaaja. Renal and vascular function in women with previous preeclampsia: a comparison of low- and high-degree proteinuria. *Kidney Int.* 70 (2006) 1818–1822. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5001902>.

- [23] B.E. Vikse, L.M. Irgens, L. Bostad, B.M. Iversen, Adverse perinatal outcome and later kidney biopsy in the mother, *J Am Soc Nephrol.* 17 (2006) 837-845. <https://doi.org/10.1681/ASN.2005050492>.
- [24] J. Prakash, H. Kumar, D.K. Sinha, P.G. Kedalya, Acute Renal Failure in Pregnancy in a Developing Country: Twenty Years of Experience, *Renal Failure.* 28 (2006) 309-313. <https://doi.org/10.1080/08860220600583658>.
- [25] D. Gordin, V. Hiilesmaa, J. Fagerudd, M. Ronnback, C. Forsblom, R. Kaaja, et al., Preeclampsia but not pregnancy-induced hypertension is a risk factor for diabetic nephropathy in type 1 diabetic women, *Diabetologia.* 50 (2007) 516–522. <https://doi.org/10.1007/s00125-006-0544-5>.
- [26] B.E. Vikse, L.M. Irgens, T. Leivestad, R. Skjaerven, B.M. Iversen, Preeclampsia and the risk of end-stage renal disease, *N Engl J Med.* 359 (2008) 800-809. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0706790>.
- [27] M.K. Sandvik, B.M. Iversen, L.M. Irgens, et al. Are adverse pregnancy outcomes risk factors for development of end-stage renal disease in women with diabetes? *Nephrol Dial Transplant.* 25 (2010) 3600–3607. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfq275>
- [28] A. Turgut, O. Demirci, E. Demirci, M. Uludoğan, Comparison of maternal and neonatal outcomes in women with HELLP syndrome and women with severe preeclampsia without HELLP syndrome, *Journal of Prenatal Medicine.* 4 (2010) 51-58.
- [29] B.E. Vikse, S. Hallan, L. Bostad, T. Leivestad, B.M. Iversen, Previous preeclampsia and risk for progression of biopsy-verified kidney disease to end-stage renal disease, *Nephrol Dial Transplant.* 25 (2010) 3289–3296. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfq169>.
- [30] S.Bhattacharya, G.J. Prescott, L. Iversen, et al. Hypertensive disorders of pregnancy and future health and mortality: a record linkage study. *Pregnancy Hypertens.* 2 (2011) 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2011.08.116>
- [31] N. Shahbazian, H. Shahbazian, A. Ehsanpour, et al. Hypertension and microalbuminuria 5 years after pregnancies complicated by pre- eclampsia. *Iran J Kidney Dis.* 5 (2011)324–327.
- [32] Q. Wei, L. Zhang, X. Liu, Outcome of severe preeclampsia manifested as nephrotic syndrome, *Arch Gynecol Obstet.* 283 (2011) 201–204. <https://doi.org/10.1007/s00404-009-1338-z>.
- [33] S.D. McDonald, S .Yusuf, M.W .Walsh, et al. Increased cardiovascular risk after preeclampsia in women with dysglycaemia. *Diabet Med.* 30 (2012) e1–e7. <https://doi.org/10.1111/dme.12033>.

- [34] Vikse BE, Irgens LM, Karumanchi SA, et al. Familial factors in the association between preeclampsia and later ESRD. *Clin J Am Soc Nephrol.* 7 (2012)1819–1826
[https://doi.org/ 10.2215/CJN.01820212](https://doi.org/10.2215/CJN.01820212).
- [35] S. Unverdi, M. Ceri, H. Unverdi, R. Yilmaz, A. Akcay, M. Duranay, Postpartum persistent proteinuria after preeclampsia: a single-center experience, *Wien Klin Wochenschr.* 125 (2013) 91–95. [https://doi.org/ 10.1007/s00508-013-0320-8](https://doi.org/10.1007/s00508-013-0320-8).
- [36] M.K. Sandvik, S .Hallan, E.Svarstad, B.E. Vikse. Preeclampsia and prevalence of microalbuminuria 10 years later. *Clin J Am Soc Nephrol.* 8(2013) 1126–1134. [https://doi.org/ 10.2215/CJN.10641012](https://doi.org/10.2215/CJN.10641012).
- [37]S. Aydin, F. Ersan, C. Ark, C.A. Aydın, Partial HELLP syndrome: Maternal, perinatal, subsequent pregnancy and long-term maternal outcomes, *J. Obstet. Gynaecol.* 40 (2014) 932–940. [https://doi.org/ 10.1111/jog.12295](https://doi.org/10.1111/jog.12295).
- [38] N. Pahwa, R. Bharani, R. Kumar, Post-Partum Acute Kidney Injury, *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 25 (2014) 1244-1247.
- [39] N. Kabbali, N. Tachfouti, M. Arrayhani, M. Harandou, M. Tagnaouti, Y. Bentata, et al., Outcome Assessment of Pregnancy-Related Acute Kidney Injury in Morocco: A National Prospective Study, *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 26 (2015) 619-624. [https://doi.org/ 10.4103/1319-2442.157426](https://doi.org/10.4103/1319-2442.157426).
- [40] R. Kessous, I. Shoham-Vardi, G. Pariente, et al. Long-term maternal atherosclerotic morbidity in women with pre-eclampsia. *Heart.* 101 (2015) 442–446. [https://doi.org/ 10.1136/heartjnl-2014-306571](https://doi.org/10.1136/heartjnl-2014-306571).
- [41] D. Ayansina, C. Black, S.J. Hall, A. Marcas, C. Millar, G.J. Prescott, et al., Long term effects of gestational hypertension and pre-eclampsia on kidney function: Record linkage study, *Pregnancy Hypertension (in press)* 6 (2016) 344-349. [https://doi.org/ 10.1016/j.preghy.2016.08.231](https://doi.org/10.1016/j.preghy.2016.08.231).
- [42] N.D. Paauw, J.A. Joles, J.T. Drost, et al. High-normal estimated glomerular filtration rate in early-onset preeclamptic women 10 years postpartum. *Hypertension.* 68 (2016) 1407–1414. [https://doi.org/ 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.08227](https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.08227).
- [43] A.Bokslag, P.W.Teunissen, C.Franssen, et al. Effect of early-onset preeclampsia on cardiovascular risk in the fifth decade of life. *Am J Obstet Gynecol.* 216 (2017) 523.e1–523.e7. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2017.02.015>
- [44] J.Toohar, C. Thornton, A. Makris, et al. All hypertensive disorders of pregnancy increase the risk of future cardiovascular disease. *Hypertension.* 70 (2017) 798–803.
Doi: <https://10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.09246>

- [45] N.D. Paauw, A.M. Van der Graaf, R. Bozoglan, D. Van der Ham, G. Navis, R.T. Gansevoort, et al., Kidney function after a hypertensive disorder of pregnancy: a longitudinal study, *American Journal of Kidney Disease* (in press) 71 (2017) 1-8. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2017.10.014>.
- [46] P. Moran, M.D. Lindheimer, J.M. Davison, The renal response to preeclampsia, *Semin Nephrol.* 24 (2004) 588-595.
- [47] E.M. George, J.P. Granjer, Endothelin: key mediator of hypertension in preeclampsia, *Am J Hypertens.* 24 (2011) 964-969. <https://doi.org/10.1038/ajh.2011.99>.
- [48] H.M. Sani, S.Z. Vahed, M. Ardalan, Preeclampsia: a close look at renal dysfunction, *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 109 (2019) 408-416. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.082>.
- [49] R.P. Babu, A. Christy, A. Hegde, P. Manjrekar, M. Joseph, Microalbuminuria - A better marker in hypertensive disorders of pregnancy, *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 26 (2015) 941-946. <https://doi.org/10.4103/1319-2442.164574>.
- [50] B.M. Brenner, E.V. Lawler, H.S. Mackenzie, The hyperfiltration theory: a paradigm shift in nephrology, *Kidney International.* 49 (1996) 1774-1777. <https://doi.org/10.1038/ki.1996.265>.

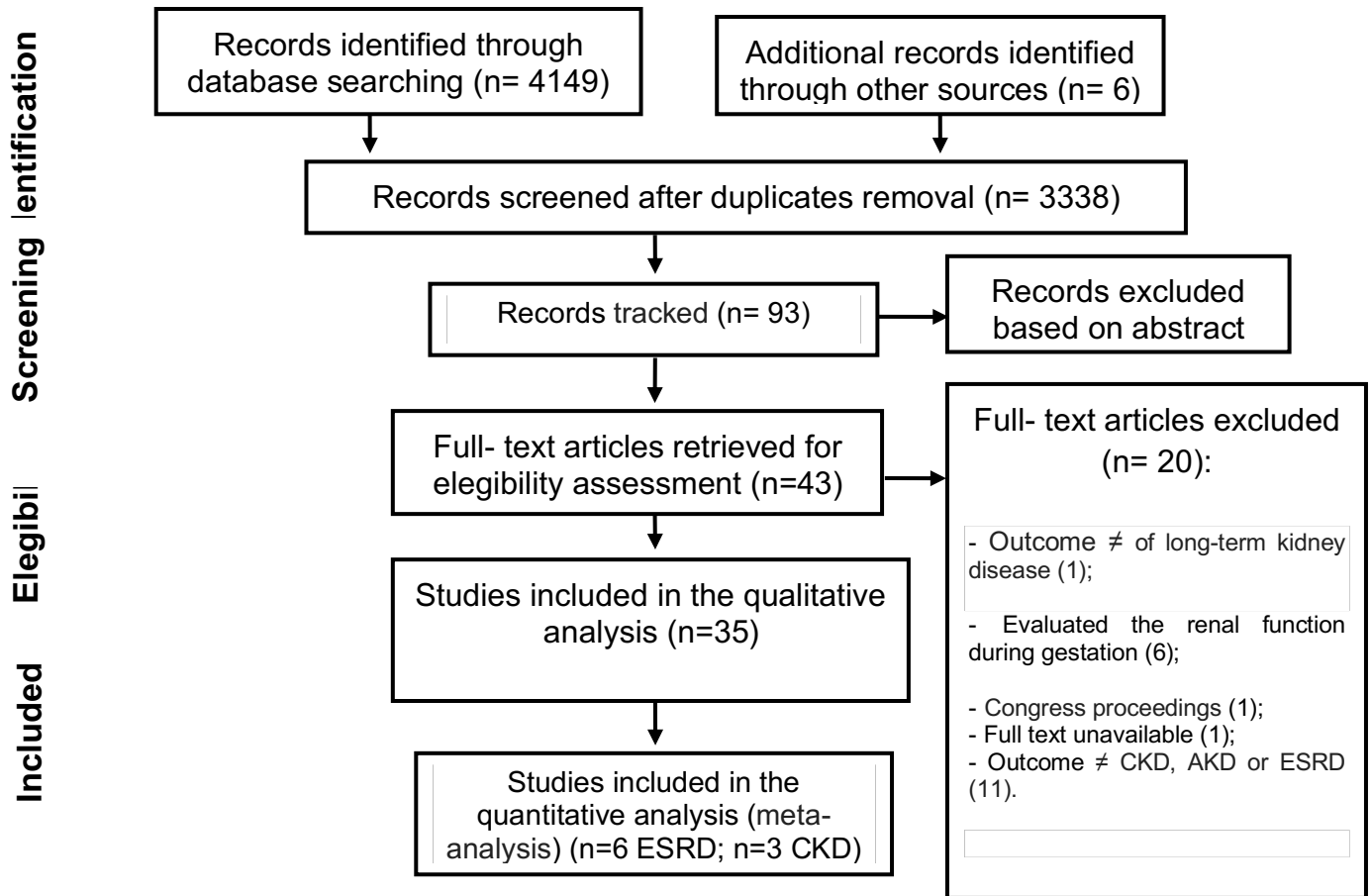


Figure 1. Flow diagram of study selection.

Table 1. Main characteristics of the included studies in relation to the development of some type of renal disease after a certain time of diagnosis of preeclampsia.

AUTHOR/ YEAR	STUDY DESIGN	TOTAL N	PREGNANTS YEAR (AVERAGE AND STANDARD DEVIATION)	TYPE OF KIDNEY DISEASE	TIME OF EVALUATION OF THE RENAL DISEASE START	DURATION OF THE STUDY (prospective cohort)	PREVALENCE OF RENAL DISEASE	MAIN OUTCOMES
Bar et al. 1999 [19]	Retrospective Cohort	44 (Control) 48 (PE)	35 years \pm 8 (Control) 36 years \pm 5 (PE)	Microalbuminuria	2 to 4 months postpartum and 3 to 5 years postpartum	-	58% (28)- 2 to 4 months and 42% (20)- 3 to 5 years 0%- Control	Women with a history of PE had a higher occurrence of microalbuminuria.
Shammas et al. 2000 [20]	Retrospective Cohort	47 (PE) 54 (PIH) 46 (Control)	27 years (PE) 32 years (PIH) 31 years (Control)	Renal function was reviewed by measuring blood levels of urea, uric acid, microalbuminuria, creatinine, calcium and albumin.	10 years	-	23% - PE 16% - PIH 3%- Control	Serum urea, creatinine and uric acid levels were not significantly affected (4.4 mmol/l in pre-eclampsia, 4.7 mmol/l in pregnancy induced hypertension and 4.6 mmol/l in control for urea, 76.0 mmol/l in PE, 74.0 mmol/l in PIH and 77.0 mmol/l in control for creatinine and 252.0 mmol/l in PE, 250.0 in PIH and 248 mmol/l in control for uric acid).

Deruelle et al. 2006 [21]	Retrospective Cohort	305 (PE) 20 (HELLP) 128 (PE + HELLP)	28.9 years \pm 5.9	AKD	Postpartum Immediate	-	There were no cases of AKD; There was alteration of creatinine, uric acid, Aspartate aminotransferase, proteinuria and hemolysis	Changes were analysed during hospitalization for delivery and the postpartum period. The severity criteria for PE or HELLP syndrome combined with caesarean section increased the risk of complication during the postpartum period.
Lampinen et al. 2006 [22]	Retrospective Cohort	30 (PE) 21 (Control)	31 years \pm 7 (PE) 33 years \pm 5 (PE) 30 years \pm 4 (Control)	Renal function: creatinine, urate, albumin	5 to 6 years postpartum	5-6 years	-	The similar renal function in all groups. There was no difference in vasodilation between PE groups and controls or correlation between degree of proteinuria during index pregnancy and present vasodilation. So, the degree of proteinuria during PE does not predict vascular dilatation or renal function 5–6 years after PE pregnancy.
Vikse et al. 2006[23]	Retrospective cohort	756.420 29.251 (PE) 726.581 (Other conditions)	24.1 years \pm 4.5 (at delivery) 40.8 years \pm 9.6 (at the biopsy time)	Glomerular diseases	Postpartum	-	50,9% (among pregnant women who had PE)	Compared with women without PE and with offspring with birth weight of >2.5 kg, women with no PE and with offspring with birth

								weight of 1.5 to 2.5 kg had an RR for a later kidney biopsy of 1.7, women with no PE and with offspring with birth weight of <1.5 kg had an RR of 2.9, women with PE and with offspring with a birth weight of >2.5 kg had an RR of 2.5, women with PE and with offspring with a birth weight of 1.5 to 2.5 kg had an RR of 4.5, and women with PE and with offspring with a birth weight of <1.5 kg had an RR of 17.
Prakash et al. 2006[24]	Prospective Cohort	130 (Post abortal) 16(Puerperal sepsis) 33 (PE-eclampsia) 6 (Uterine hemorrhag-APH) 5 (Uterine hemorrhag-PPH)	-	AKI	During pregnancy	20 years	PE was the cause of obstetric AKI by 23% (1982-1991) and 14.4% (1992-1991) of the cases in these two periods.	AKI related to pregnancy, which remained high in the initial period, has declined in recent years. This is associated with a downward AKI post-abortion trend and reduced maternal mortality. There was also a significant decrease (P <0.001) in the incidence of cortical necrosis in obstetric AKI.

Gordin et al. 2007 [25]	Prospective Cohort	105 (Control) 43 (PE) 32 (PIH)	31.1 years ± 5.2 (Control) 28.3 years ± 4.0 (PE) 28.6 years ± 5.2 (PIH)	Diabetic nephropathy (characterized from microalbuminuria, macroalbuminuria or ESKD)	Postpartum	11years	Diabetic nephropathy: 10.8%- Control 61.9% - PE 27.3% - PIH	Women with previous PE presented a higher prevalence of diabetic nephropathy in relation to those normotensive and had PIH.
Vikse et al. 2008 [26]	Retrospective Cohort	After 1 pregnancy: 549.515 (No PE) 20.918(PE) After 2 pregnancies: 456.884 (No PE) 14.588(PE in first pregnancy only) 6.120 (PE in second pregnancy only) 2411 (PE in both pregnancies) After 3 pregnancies: 198.192 (No PE) 10.727(PE in 1 pregnancy only) 5.930(PE in first pregnancy	1° child 23.5 years ± 4.3 2° child 26.9 years ± 4.3 3° child 30.2 years ± 4.3	ESRD	10, 20, 30 or about 40 years after the first, second or third parity. Average 17 years after first pregnancy.	-	0.007%, 0.015%, 0.051%, 0.10% and 0.18% of women within 5, 10, 20, 30 and 38 years after first birth, respectively. Overall rate after first birth was 3.7 per 100,000 / year.	The risk of ESRD was higher in cases of more than one gestation with eclampsia. In total, 168 cases were due to glomerulonephritis, 100 were due to hereditary or congenital causes, 68 were due to diabetic nephropathy, and 82 were due to other causes.

		only) 1.875 (PE in second pregnancy only) 2922 (PE in third pregnancies) 1741 (PE in >2 pregnancies)						
Sandvik et al. 2010 [27]	Retrospective Cohort	2.204 (Diabetes) 634.499 (Control)	-	ESRD (death)	Up to 37 years	-	13.2% - Diabetes 3.7% - Control	Women with pregestational diabetes, PE and preterm birth were associated with long term increased risk of ESRD and death, but only in women who had only one pregnancy.
Turgut et al. 2010 [28]	Retrospective cohort	467 (severe PE without HELLP) 111 (HELLP)	27.6 years ± 5.7 (Severe PE) 27.7 years ± 5.4 (HELLP)	ARF	Postpartum	-	2,4% (11)- Severe PE 8.1% (9)- HELLP	The simultaneous presence of HELLP syndrome and PE, along with oliguria, ascites, thrombocytopenia, elevation of liver enzymes, and caesarean delivery, was associated with postpartum complications, including ARF.
Vikse et al. 2010 [29]	Retrospective Cohort	495 (Control)	41.3 years ± 9.7	Development of ESRD through	3.9 ± 3.4 years after kidney biopsy	-	PE in the first gestation presented a	In women with renal disease diagnosed

		59 (PE)		biopsy.			relative risk of 1.2 (95% CI 0.63 - 2.4) for ESKD. 10% of those with PE in the first gestation presented any change in kidney function according to biopsy.	by renal biopsy, PE history was not shown to be a risk factor for ESKD progression.
Bhattacharya et al. 2012 [30]	Retrospective cohort	2026 (PE) 23937 (Control) 8891 (HSG)	24.57 years ± 5.1 (PE) 24.25 years ± 4.94 (Control) 24.34 years ± 4.84	Mortality and hospitalization for CKD	62 years	-	It was observed 0.1% of deaths by CKD in each group (PE, control and HSG);	Women with PE also had a risk of death from kidney disease {adjusted incident rate ratio (adj. IRR) 1.72, 95% confidence interval (CI) 0.51-5.79.
Shahbazian et al. 2011 [31]	Retrospective cohort	35 (PE) 35 (Control)	25.0 years ± 2.1 (PE) 25.8 years ± 2.3 (Control)	Microalbuminuria	5.7 (5.2- 7.3) years	-	20%- PE 0%- Control	Microalbuminuria was present in all hypertensive women in the PE group, but not in the only women in the control group with hypertension.
Wei et al. 2011 [32]	Retrospective cohort	22 (severe PE and nephrotic syndrome)	27.8 (22-34 years)	ARF .	More than 10 weeks postpartum	-	9,1% (2)- ARF	Blood pressure was recovered in all 22 cases within 6 weeks; oedema usually regressed within 6 weeks. However, only 1 patient recovered at the 10th week; urinary protein disappeared within 6 weeks but remained in the patient's urine in 2 cases after 10

								weeks.
McDonald et al. 2012 [33]	Cross-sectional	108 (Severe PE) 359 (Non-severe PE) 3613 (Control)	61.2 years ± 7.6 (Severe PE) 60.9 years ± 7.2 (Non-severe PE) 63.6 years ± 7.9 (Control)	Renal disease (self-reported), microalbuminuria, GFR, CVD	-	-	Renal disease: 10% -Severe PE 8% -Non- severe PE 7% -Control Microalbuminuria: 15.8% Severe PE 12.3% Non- severe PE 11% Control GFR < 60 ml/min: 22% Severe PE 23% Non- severe PE 26% Control	There was no difference in the development of kidney disease and the presence of microalbuminuria in women with PE and dysglycaemia compared to control. Even after controlling for cardiovascular risk factors including albuminuria, a history of severe PE is independently associated with a threefold increased risk of CV disease.
Vikse et al 2012 [34]	Retrospective cohort	526.397 (Control) 44.278 (PE)	26.06 years ± 4.9 (PE)	ESRD	45 years		Index women with at least one sibling with preeclampsia in first pregnancy had a RR for developing ESRD during follow-up of 0.90 (95% CI, 0.57–1.42) compared with women without siblings with preeclampsia	Familial aggregation of risk factors does not seem to explain increased ESRD risk after preeclampsia. These findings support the hypothesis that PE per se may lead to kidney damage.
Unverdi et al. 2013[35]	Prospective cohort	463 (PE), been 14 with renal biopsy	28.5 years ± 5.2	KD (Membranoproliferative glomerulonephritis, IgA nephropathy; segmental glomerulosclerosis;	Until 3 months postpartum	2005 to 2010	10 of the 14 patients (71%) were diagnosed with KD subjacent; 4 patients were diagnosed with idiopathic PE (29%).	Proteinuria was detected in all patients. Haematuria was detected in 8 patients (57%), and elevated serum creatinine levels

				with amyloidosis).				were observed in 5 patients (36%).
Wang et al. 2013 [11]	Retrospective cohort	26.651 (HSG), been: -17998 (PE) -8653 (GH) 213.397 (Control)	29.6 years ± 4.80 (HSG) 29.5 years ± 4.75 (Control)	ESRD	Postpartum	11 years	ESRD: 0,01% (25)- Control 0,22% (61)- HSG 0.33% (61)- PE 0.20% (18)- GH	Women with PE or eclampsia had a higher risk of ESRD than those who had only HSG.
Männistö et al. 2013 [12]	Prospective Cohort	6552 (Control) 242 (PE/ eclampsia) 116 (Superimposed PE/ eclampsia) 866 (Isolated Systolic Hypertension) 742 (Isolated Diastolic Hypertension) 137 (Isolated Systolic or Diastolic Hypertension with proteinuria) 991 (Gestational Hypertension) 668 (Chronic Hypertension)	26.6 years ± 6.2 (Control) 26.7 years ± 6.9 (PE/ eclampsia) 32.1 years ± 7.1 (Superimposed PE/ eclampsia) 28.3 years ± 7.0 26.9 years ± 2.7 26.8 years ± 6.6 27.8 years ± 7.3 31.5 years ± 7.1	CKD	Started in gestation and continued on postpartum	39.4 (3.0-43.6 years)	1.1% (73)- Control 0.8% (2)- PE/ eclampsia 1.7% (2)- (Superimposed PE/ eclampsia)	HSG and isolated hypertension with proteinuria were associated with greater risks for CKD compared to control mothers

Sandvik et al 2013 [36]	Retrospective cohort	69 (Control) 89 (PE)	39.0 years ± 5.3 (Control) 37.9 years ± 4.2 (PE)	Microalbuminuria	9-11 years	-	0%- Control 1.12% (1)- PE	PE was not associated with increased prevalence of microalbuminuria or higher rates of urinary albumin excretion. In addition, it was a statistically significant association between preterm PE and having a high normal eGFR.
Wu et al. 2014 [13]	Retrospective cohort	930.841 (Control) 13633 (with HSG)	28.29 years ± 4.96 (Control) 30.07 years ± 5.46 (HSG)	ESRD	11 years postpartum	-	0.02% (212)- Control 0.34% (46)- HSG	Women with a history of hypertensive disease or who were 35 years of age or more at the time of delivery have a higher risk of postpartum ESRD. Those with HSG also have a higher risk of ESRD than other women.
Aydin et al. 2014 [37]	Retrospective cohort	64 (cHELLP) 67 (pHELLP)	28.1 years ± 5.6 (cHELLP) 29 years ± 6.7 (pHELLP)	ARF	7-12 years postpartum	-	6.25% (4)- cHELLP 2.98% (2)- pHELLP	ARF was the complication reversed without long-term treatment; hospitalization in the intensive care was more frequent

								in the cHELLP group than in the pHELLP group, with 11 cases (17.2%). The major complications of pregnancy were ARF and eclampsia.
Pahwa et al. 2014 [38]	Retrospective cohort	752 (AKI)	26.7 years ± 4.2	AKI	Until 3 months postpartum	-	3.59% (27)- AKI postpartum, been PE/eclampsia responsible for 40.7% of the cases.	Sepsis was the major cause (70.3%) of post-partum AKI. Other causes included disseminated intravascular coagulation (55.5%), pre-eclampsia/eclampsia (40.7%), ante- and post-partum hemorrhage (40.7% and 22.2%) and hemolytic anemia and elevated liver enzymes and low platelet count syndrome (29.6%) A significant correlation was also found between the creatinine level on admission and the period of onset of disease after delivery.
Kabbali et al. 2015[39]	Prospective	44 (AKI in pregnant)	29.6 years ± 6	AKI	Until 3 months postpartum	6 months	63.63% (28) of AKI form cases arising from PE	The main etiologies of AKI were PE, hemorrhagic shock, and septic events.

								The maternal mortality rate was 11.4%.
Kessous et al. 2015 [40]	Retrospective cohort	7824 (PE) 88546 (Control)	28.3 years ± 6 (PE) 28.8 years ± 6 years (Control)	Renal morbidity CV morbidity	11.2 years	-	Renal morbidity: 0.3%- PE 0.1%- Control	Patients with PE had higher rates of cardiovascular morbidity including cardiac non-invasive (OR 1.4; 95% CI 1.1 to 1.7; p=0.005) and invasive diagnostic procedures (OR 1.7; 95% CI 1.2 to 2.3; p=0.001), simple (OR 1.5; 95% CI 1.2 to 1.8; p=0.001), as well as complex cardiovascular events (OR 2.4; 95% CI 2.2 to 2.8; p=0.001) and renal (OR 3.7; 95% CI 2.2 to 6.0; p=0.001) hospitalisations.
Ayasina et al. 2016 [41]	Retrospective cohort	3583 (HSG) 811 (PE) 10457 (Control)	25.0 years ± 5.0 (HSG) 24.8 years ± 5.3 (PE) 25.3 years ± 5.3 (Control)	CKD	Up to 40 years postpartum.	-	7.5% - 268 - HSG 5.2% - 42 - PE 3.9% - 407 - Control	There was an increased subsequent risk of CKD associated with HSG. Women with HSG and PE also found CKD earlier than control.
Paauw et al. 2016 [42]	Cross-sectional cohort	339 (PE) 332 (Control)	29.8 years ± 3.8 (PE) 28.6 years ± 4.1 (Control)	CKD, proteinuria	Up to 10 years postpartum	2009-2010	No increased incidence of CKD in PE women was observed and slightly higher protein excretion was	No increased incidence of CKD in PE women was observed. The study demonstrated subtle changes in renal function in former

							observed in PE	early-onset preeclamptic women 10 years postpartum, characterized by a high-normal eGFR and a slightly higher protein excretion.
Bokslag et al. 2017 [43]	Prospective observational	131 (PE) 56 (Control)	30.9 years ± 5.0 (PE) 32.3 years ± 4.1 (Control)	GFR, microalbuminuria	9-16 years postpartum	2014 to 2016	The GFR was similar in both groups. Microalbuminuria was higher in PE group (PE: 4.4 [3.0–7.8], Control: 3.0 [3.0–3.9], p=0.015).	Biomarker analyses revealed higher levels of microalbumin in urine of PE group compared to women with control group.
Eswarappa et al. 2017 [9]	Prospective observational	347 (PIH)	26 years	AKI	During gestation and in the immediate postpartum	2010 to 2014	16% (56)- AKI 2.5% (9)- persistent AKI	The overall incidence of PE was 3.4%. HELLP syndrome was seen in 31 patients (9%); 56 patients (19%) had AKI with a mean serum creatinine of 3.2 mg/dL and mean proteinuria of 2.8 g/24 h. 19 patients required dialysis. Maternal mortality was 2.5%, largely secondary to sepsis. Primiparity was a major risk factor. In this study, we found a low rate of PE in a low-to-moderate risk cohort, with an incidence of AKI and maternal

								mortality consistent with reported literature.
Huang et al. 2017 [10]	Retrospective cohort	343 (AKI) 1427 (PE)	29.41 years ± 5.94	AKI	Up to 7.5 years postpartum	-	16.82% (240)- AKI in PE.	About 17% women with PE/eclampsia and 60% women with HELLP syndrome complicated with AKI. PE/eclampsia is the most common cause of AKI during pregnancy and puerperium.
Toohar et al. (2017) [44]	Retrospective cohort	27.262 (Control) 1165 (HSG), been: 356 (PE) 625 (GH) 98 (Chronic hypertension) 76 (Superimposed PE)	-	Hospitalization for CKD	20 years (3-29 years) postpartum	-	-	In the validated cohort, there was no significant difference between the women with preeclampsia and those with GH and admission to hospital for RD.
Lopes Van Balen et al. 2017 [8]	Retrospective Cohort	49 (Control) 79 (PE)	39 years ± 4 (Control) 35 years ± 4 (PE)	GFR, Microalbuminuria	At least 4 months (average of 10 months).	-	There was no difference between the groups about GFR and microalbuminuria	At least 4 years after pregnancy, women with a history of PE demonstrated decreased flow mediated dilatation when compared to controls. In this study, decreased flow mediated dilatation however did not coincide with

								decreased kidney function.
Paauw et al. 2017 [45]	Prospective cohort	1805 (Control) 977 (HSG)	48 (39-59)- control 50 (42-59)- HSG	CKD Albuminuria 24 hours GFR ESKD	11 years	1997 to 2012	There was no incidence of ESKD, and CKD was similar among those with HSG (HR 1.04, 95% CI 0.79-1.37, P= 0.8). In addition, there was a decrease in GFR in both groups.	The presence of HSG did not significantly increase the incidence of CKD. During follow-up, no difference was observed in albuminuria. No significant risk was identified for RF decline after HSG.
Kristensen et al. 2019[7]	Retrospective cohort	1.031.705 (Control) 40.625 (PE)	Age (years) n (%): <20: 89 (3.4%) 20-24: 594 (22.4%) 25-29 979 (36.9%) 30-34: 677 (25.5%) ≥35: 312 (11.8%)	CKD AKI Acute tubulointerstitial nephritis	18.6 years (average)	-	Women who had PE were more likely to develop CKD: a risk ratio of 3.93 (95% confidence interval 2.90 to 5.33) for early premature PE (childbirth <34 weeks) 2.81 (2.13 to 3.71) for late preterm PE parturition 34-36 weeks), 2.27 (2.02 to 2.55) for term PE (parturition ≥37 weeks).	PE was strongly associated with several CKD later in life.
Khashan et al. 2019 [17]	Retrospective cohort	1.292.792 (Control) 65.751 (PE)	Age (years) n (%): <20: Control: 60.482 (4.7%) PE: 3.272 (4.7%) 20-29: Control: 816.752 (63.2%) PE: 41.756	ESKD	7.4 to 16.4 years postpartum	-	There was an association between PE and ESKD in the unadjusted analysis (hazard ratio [HR] = 4.99, 95% confidence interval [CI] 3.93–6.33; p < 0.001), which remained in the extensively	The present findings suggest that women with PE and no major comorbidities before their first pregnancy are at a 5-fold increased risk of ESKD compared with parous women with no PE;

			(63.5%) 30-39: Control: 395.997 (30.6%) PE: 19.546 (29.6%) ≥40: Control: 19.561 (1.5%) PE: 1.177 (1.8%)				adjusted (HR = 4.96, 95% CI 3.89–6.32, p < 0.001) models. Women who had preterm preeclampsia (adjusted HR = 9.19; 95% CI 5.16–15.61, p < 0.001) and women who had PE in 2 pregnancies (adjusted HR = 7.13, 95% CI 3.12–16.31, p < 0.001) had the highest risk of ESKD compared with women with no PE.	however, the absolute risk of ESKD among women with PE remains small.
--	--	--	--	--	--	--	---	---

Legend: ACR- albumin creatinine ratio; AKD- acute kidney disease; AKI- acute kidney injury; ARF- acute renal failure; cHELLP- complete syndrome HELLP; CI- confident interval; CKD- chronic kidney disease; CV- cardiovascular; ESKD- end stage of kidney disease; ESRD- end estage of renal disease; GA- gestational age; GFR- glomerular filtration rate; HELLP- specific disorder of pregnancy characterized by hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count; GH- gestational hypertension; HR- hazard ratio; HSG- hypertensive syndrome of gestation; IgA- immunoglobulin A; KD- kidney disease; PE- pre-eclampsia; pHELLP- partial syndrome HELLP; PIH- pregnancy-induced hypertension; RF- renal function; RR- relative risk.

Table 2: Evaluation of the quality of the evidence through the Newcastle-Ottawa tool.

SOURCE / YEAR	SCORE	RESULT
Bar et al., 1999[22]	6	Poor
Shammas et al., 2000 [23]	7	Good
Deruelle et al., 2006[24]	7	Good
Lampinen et al., 2006 [25]	7	Good
Vikse et al., 2006[26]	8	Good
Prakash et al 2006[27]	7	Good
Gordin et al., 2007[28]	8	Good
Vikse et al., 2008[29]	8	Good
Sandvik et al. 2010 [30]	7	Good
Turgut et al., 2010[31]	7	Good
Vikse et al., 2010[32]	8	Good
Bhattacharya et al. 2011 [33]	7	Good
Shahbazian et al. 2011 [34]	7	Good
Wei et al., 2011[35]	7	Good
McDonald et al. 2012 [36]	8	Good
Vikse et al. 2012 [37]	8	Good
Unverdi et al., 2013[38]	6	Poor
Sandvik et al., 2013 [39]	7	Poor
Wang et al., 2013[14]	6	Poor
Männistö et al., 2013[15]	8	Good
Wu et al., 2014[16]	7	Good
Aydin et al., 2014[40]	5	Poor
Pahwa et al., 2014[41]	3	Poor
Kabbali et al., 2015[42]	3	Poor
Kessous et al. 2015 [43]	8	Good
Ayasina et al., 2016[44]	8	Good
Paauw et al. 2016[45]	8	Good
Eswarappa et al., 2017[12]	7	Good
Huang et al., 2017[13]	7	Good
Van Balen et al. 2017[3]	8	Good
Bokslag et al. 2017 [46]	7	Good
Tooher et al. 2017 [47]	8	Good
Paauw et al., 2017[48]	7	Good
Kristensen et al. 2019[10]	8	Good
Khashan et al. 2019 [20]	8	Good

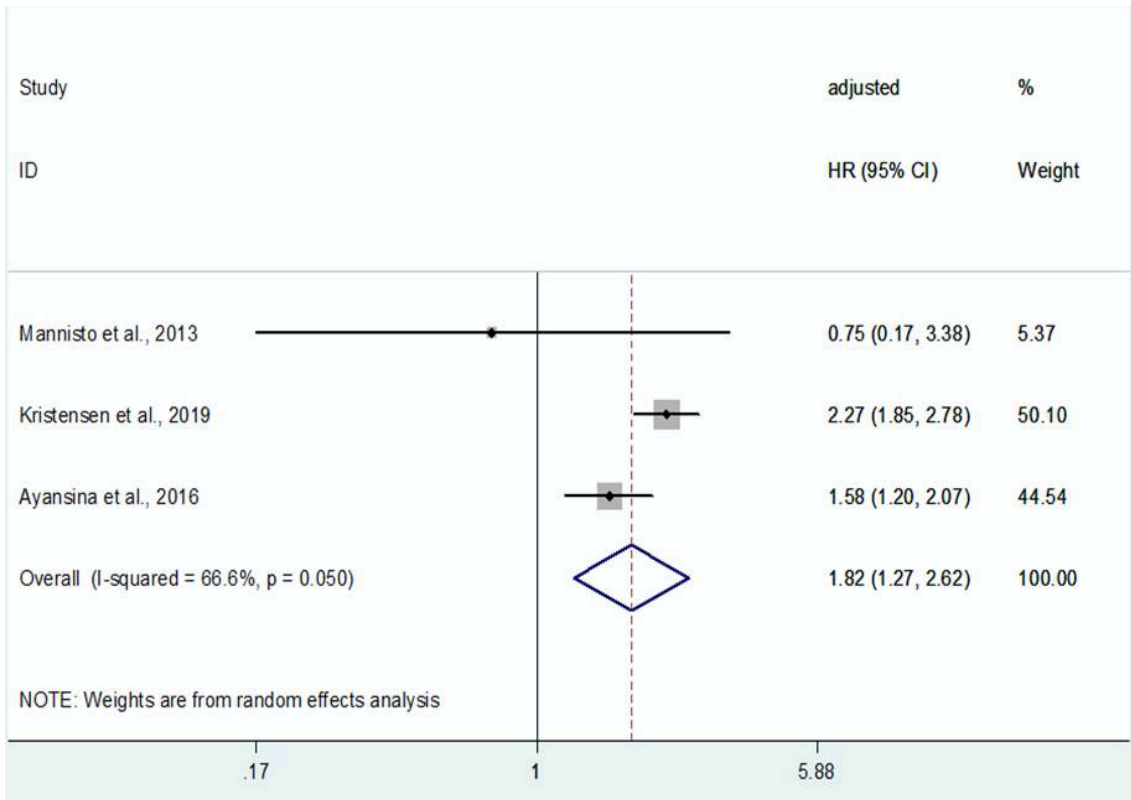


Figure 2. Forest plot of the CKD analysis.

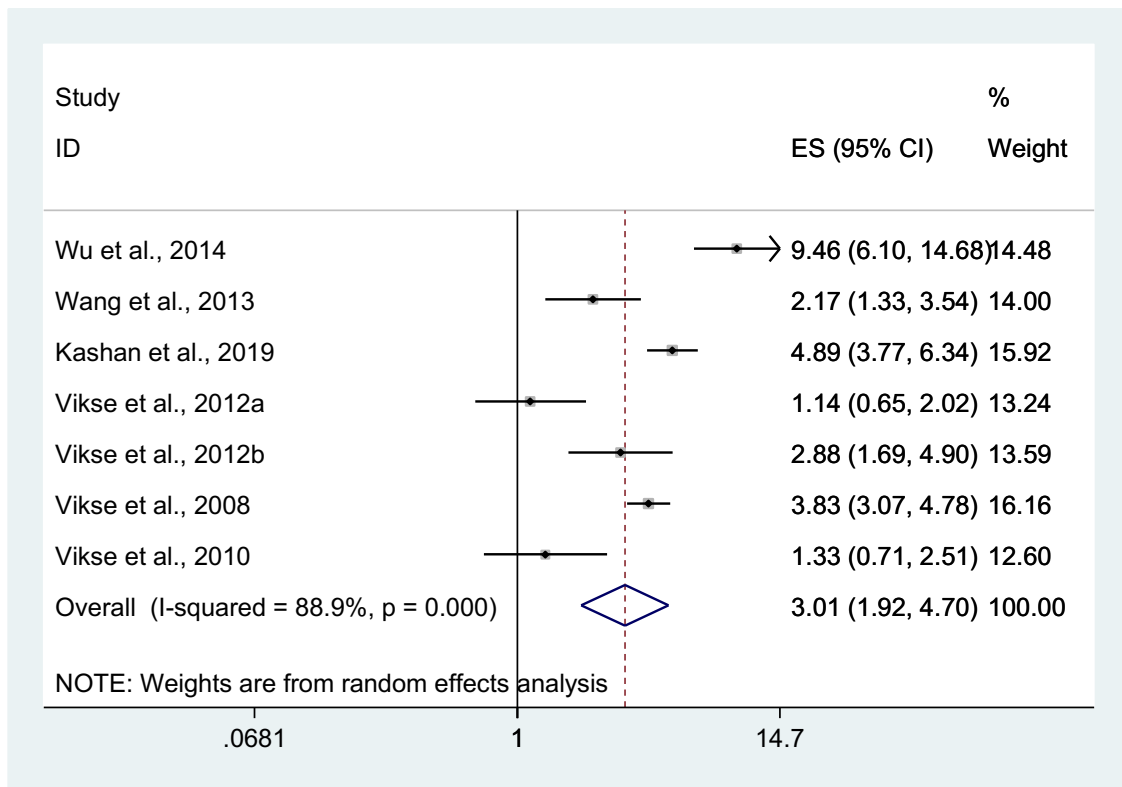


Figure 3. Forest plot of the end-stage kidney disease.

6.3CAPÍTULO DE LIVRO

PRÉ-ECLÂMPسيا: ESTRESSE OXIDATIVO, INFLAMAÇÃO E EFEITOS DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES E ANTI-INFLAMATÓRIOS

MARILENE BRANDÃO TENÓRIO
RAPHAELA COSTA FERREIRA
ALANE CABRAL MENEZES DE OLIVEIRA

Resumo

A pré- eclâmpسيا (PE) constitui, dentre os distúrbios hipertensivos da gestação, a principal causa de morbimortalidade perinatal no mundo, estando a PE presente em torno de 2- 8% de todas as gestações. Entretanto, é preciso ressaltar que sua patogênese é ainda parcialmente esclarecida, o que dificulta sua prevenção e tratamento adequados. Dentre as hipóteses sugeridas como envolvidas na fisiopatologia da PE, destacam-se alguns fatores capazes de interagir e determinar as manifestações características da PE: placentação deficiente, angiogênese inadequada, disfunção endotelial, exacerbação da resposta inflamatória, problemas na adaptação imunológica e estresse oxidativo. Estudos relacionando o papel de compostos antioxidantes e anti-inflamatórios vêm sendo conduzidos, porém os resultados ainda são controversos. Dessa forma, é necessário que mais pesquisas sejam realizadas visando o esclarecimento completo da PE, para assim, favorecer o manejo adequado e minimizar suas complicações à saúde, considerando as altas taxas de morbimortalidade materna e fetal em todo o mundo.

Palavras- chave: Desbalanço redox, Inflamação; Gestante; Pré-eclâmpسيا

Introdução

A pré-eclâmpسيا (PE) constitui, dentre os distúrbios hipertensivos da gestação, a principal causa de morbimortalidade perinatal no mundo, estando a PE presente em torno de 2- 8% de todas as gestações. Entretanto, é preciso ressaltar que sua patogênese é ainda parcialmente esclarecida, o que dificulta sua prevenção e tratamento adequados¹.

Apesar de muitos estudos estarem sendo desenvolvidos nos últimos anos, a etiologia e fisiopatologia da doença permanecem controversas e pouco compreendidas. Porém, a literatura científica descreve fatores de risco bem estabelecidos para a PE, que incluem: idade ≥ 40 anos, nuliparidade, PE prévia,

história familiar de PE, gestações múltiplas, condições clínicas pré-existentes, como diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica e doença renal, presença de doenças autoimunes, índice de massa corporal caracterizando excesso de peso e cor da pele negra^{2,3}.

Em uma gestação que cursa normalmente, após o óvulo ser fecundado pelo espermatozoide, é necessário que o embrião seja implantado no endométrio para o progresso da gravidez. Com isso, células embrionárias especializadas, chamadas trofoblásticas, invadem o endométrio materno, causando um remodelamento das artérias espiraladas uterinas, e com isso, aumentando seu calibre de maneira que o fornecimento de sangue rico em oxigênio e nutrientes esteja garantido para a unidade feto-placentária. Na PE, por sua vez, sabe-se que ocorre um defeito nesse processo de remodelamento das artérias espiraladas, acarretando hipóxia e hipoperfusão placentária, o que pode levar ainda à restrição de crescimento intrauterino^{4,5,6}.

Apesar de sua origem não ser bem estabelecida, desde o início do século 20, pesquisadores consideram o papel da placenta na etiologia da PE, e não necessariamente da presença do feto, considerando que em gestações molares, condição clínica onde não há desenvolvimento fetal, também pode ocorrer a doença. Dentre as hipóteses sugeridas como envolvidas na fisiopatologia da PE, destacam-se alguns fatores capazes de interagir e determinar as manifestações características da PE: placentação deficiente, angiogênese inadequada, disfunção endotelial, exacerbação da resposta inflamatória, problemas na adaptação imunológica e estresse oxidativo^{2,7}.

Nesse contexto, ressalta-se a gravidade das consequências da PE para o binômio mãe-filho, que incluem, dentre outros problemas, eclâmpsia, falência renal e ruptura hepática para as mães, além de restrição de crescimento intrauterino, parto prematuro e nascimento de crianças pequenas para idade gestacional, para os conceptos,^{7,8}.

Diante do exposto, considerando as altas taxas de morbimortalidade decorrentes da PE, bem como a escassez de informações sobre a mesma, torna-se evidente a necessidade de se estudar a doença de forma a buscar alternativas capazes de favorecer a detecção das mulheres com alto risco, viabilizando sua prevenção, diagnóstico precoce, além de um tratamento eficaz que atue na causa do problema, e não apenas nas suas consequências.

Objetivos

Ao final da leitura deste artigo, o leitor será capaz de:

- Compreender o conceito e a epidemiologia da doença;
- Elencar o que existe bem documentado acerca da fisiopatologia da PE, bem como o papel do estresse oxidativo no processo;
- Avaliar os efeitos dos principais compostos antioxidantes, com ênfase naqueles citados na literatura como tendo ação sobre a prevenção e o tratamento da PE;
- Relacionar o papel da inflamação na fisiopatologia da doença;
- Reconhecer os compostos anti-inflamatórios com indicação científica para uso na prevenção e tratamento da PE;
- Ponderar acerca das formas de prevenção e do tratamento convencional existentes.

Pré-eclâmpsia: conceito e epidemiologia

A PE é uma síndrome específica da gravidez caracterizada por hipertensão (pressão arterial- PA $\geq 140 \times 90$ mmHg) e proteinúria (≥ 300 mg/24 horas) após a 20ª semana de gestação. Adicionalmente, podem ocorrer outros sintomas, incluindo cefaleia, turvação visual, dor abdominal, plaquetopenia ($< 100.000/\text{mm}^3$), elevação de enzimas hepáticas, disfunção renal, edema pulmonar, distúrbios visuais ou cerebrais, escotomas ou convulsão⁹ (WHO, 2013). Sendo considerada uma complicação grave, que acomete de 5 a 7% das gestantes¹⁰⁻¹².

Constitui uma das principais causas de mortalidade materna e perinatal, bem como uma importante causa de parto prematuro e restrição de crescimento fetal. A PE é uma doença heterogênea, com diferentes classificações de acordo com a gravidade (PE leve e PE grave)^{13,14} e em precoce e tardia, considerando a idade gestacional no momento do aparecimento das manifestações clínicas da doença, isto é, antes da 34ª ou a partir da 34ª semana de gestação, respectivamente¹⁵⁻¹⁷. Os critérios de classificação para as formas leve e grave da doença são baseados em achados clínicos e laboratoriais e podem ser observados no Quadro 1.

Quadro 1: Critérios de classificação para PE leve e PE grave.

PE LEVE	PE GRAVE (>1 dos critérios)
PA > 140/90 mmHg após 20 semanas de IG em paciente normotensa antes da gestação	Pressão arterial diastólica igual/maior que 110mmHg
Proteinúria de 1+ em fita (duas amostras de urina com 4-6 horas de intervalo que se correlaciona a 30mg/dl em amostra de urina, quando excluída presença de infecção urinária), mas confirmada com >0,3 g em urina de 24 horas	Proteinúria igual/maior que 2,0g em 24 horas ou 2+ em fita urinária
Sintomas cerebrais (cefaleia, tonturas, visão borrada, escotomas), ou digestivos (dor epigástrica ou no quadrante superior direito, náuseas ou vômitos), ou trombocitopenia e alteração de enzimas hepáticas, mesmo na ausência de proteinúria	Oligúria (menor que 500ml/dia, ou 25ml/hora)
	Níveis séricos de creatinina maiores que 1,2mg/dL
	Sinais de encefalopatia hipertensiva (cefaleia e distúrbios visuais)
	Dor epigástrica ou no hipocôndrio direito
	Evidência clínica e/ou laboratorial de coagulopatia
	Plaquetopenia ($< 100.000/\text{mm}^3$)
	Aumento de enzimas hepáticas (TGO,

TGP, DHL) e de bilirrubinas
Presença de esquizócitos em
esfregaço de sangue periférico

Legenda: DHL- desidrogenase láctica; PA- pressão arterial; TGO- transaminase glutâmico-oxalacética; TGP- Transaminase glutâmico-pirúvica.

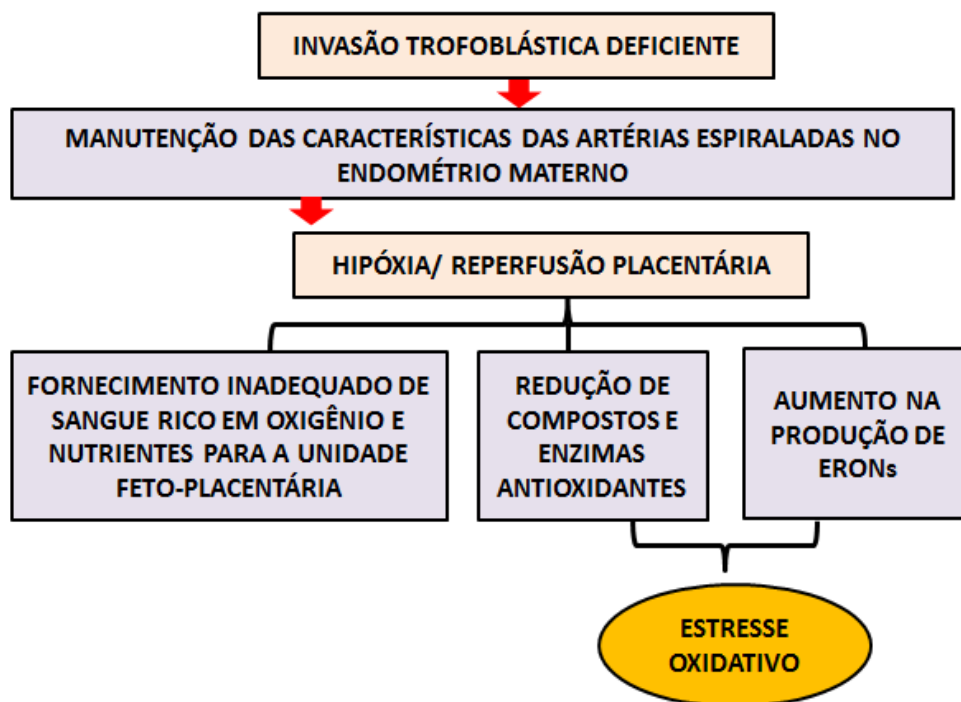
Fonte: Adaptado de Freire; Tedoldi, 2009¹⁷; Brasil, 2012¹⁸.

Fisiopatologia e papel do estresse oxidativo

O processo de invasão trofoblástica deficiente no início da gestação, característico da PE, acarreta na persistência das características das artérias espiraladas do útero materno, as quais, mantendo sua alta resistência, comprometem o fornecimento de sangue oxigenado para placenta e feto. Com isso, o sangue fornecido para tais regiões chegará através de jatos de alta pressão, sendo marcado por um processo repetido de hipóxia/ reperfusão, o que culmina com um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERONS), dando origem ao estresse oxidativo (EO) ^{7,19} (Figura 1).

Um dos mecanismos mais amplamente citados na literatura como envolvido na fisiopatologia da PE, o EO consiste no desequilíbrio entre a produção ERONS e o sistema de defesa antioxidante. Na PE, em decorrência da anormalidade placentária já descrita anteriormente, o processo de hipóxia acarreta, conseqüentemente, em redução nos níveis de compostos e enzimas antioxidantes presentes no organismo, favorecendo uma produção exacerbada de ERONS, o que conduz ao aumento da peroxidação lipídica, inflamação e dano celular. Contudo, vale ressaltar que o EO também está presente em baixo grau em gestações normais, desenvolvendo importantes ações de sinalização celular^{6,20}.

O tecido placentário possui, naturalmente, pouca capacidade antioxidativa. Com isso, diante da elevada produção de ERONS na PE, as células passam a apresentar maior atividade de apoptose/ necrose, fazendo com que sejam liberadas na corrente sanguínea materna grande quantidade de debris placentários e fatores angiogênicos, que irão promover ativação leucocitária sistêmica. Em conjunto, essas alterações serão capazes de desencadear um processo inflamatório generalizado, adesão plaquetária e vasoconstrição, aumentando a produção de citocinas inflamatórias, como TNF- α , IL-6 e IFN- γ , e de espécies reativas de oxigênio, como radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e radical hidroxila (OH^{\bullet}). Assim, a interação de todos esses fatores culminará no aparecimento dos sinais clínicos da PE ^{7,19}.



* EROns: espécies reativas de oxigênio e nitrogênio

Figura 1: Processo de instalação do estresse oxidativo na pré-eclâmpsia.

Fonte: Elaborado pelas autoras, a partir de Oliveira et al., 2010⁷; Sanchez-Aranguren et al., 2014¹⁹.

Prevenção e tratamento convencional

Cerca de 25% das mortes maternas que ocorrem na América Latina, estão relacionadas aos distúrbios hipertensivos da gestação, além de um décimo na Ásia e África. Dentre estes distúrbios, a PE tem um maior impacto na morbimortalidade do público acometido. Contudo, tais mortes poderiam ser evitadas se o diagnóstico ocorresse de forma precoce, bem como, o tratamento eficaz, baseado em evidências, no controle na doença⁹.

Atualmente, não existe na literatura um consenso acerca das melhores estratégias de prevenção e tratamento da PE, especialmente no que se refere à nutrição. Contudo, apesar dos resultados ainda serem controversos, estudos vêm sendo realizados considerando a suplementação de compostos antioxidantes, bem como de compostos anti-inflamatórios, visando minimizar o estresse oxidativo e a inflamação, que já são bem documentadas na doença. Por sua vez, o tratamento conservador da PE inclui a restrição dietética de sal e a utilização de medicamentos anti-hipertensivos. Em casos mais graves, pode ser necessária ainda a internação hospitalar para que haja um monitoramento adequado da situação de saúde da mulher e do feto^{8, 21-24}.

De acordo com um artigo de revisão realizado por Mol et al., 2015⁸, algumas estratégias de prevenção podem ser adotadas por mulheres consideradas como sendo de alto risco para o desenvolvimento da PE, que incluem intervenções farmacológicas, como administração de aspirina, por sua ação antiplaquetária e antiinflamatória; e intervenções não-farmacológicas, como a suplementação de cálcio para mulheres com ingestão inadequada (cerca de 1 a 2g/dia)¹, bem como

mudanças no estilo de vida, incluindo adoção de dieta rica em alimentos e óleos de origem vegetal, especialmente os ricos em ácidos graxos poli-insaturados.

Por sua vez, o tratamento definitivo para a PE inclui a finalização da gravidez, que culmina com a retirada da placenta do organismo materno. Contudo, o manejo adequado da doença minimiza as complicações estabelecidas, como a hipertensão arterial sistêmica, evitando o nascimento de conceitos prematuros, bem como, prolongando a sobrevivência do binômio mãe-filho^{1,7}.

Compostos antioxidantes sugeridos e utilizados na prevenção e/ou tratamento da pré-eclâmpsia

Estudos na literatura têm sido realizados visando avaliar a suplementação com antioxidantes tanto na prevenção como no tratamento da PE (Tabela 1 e 2). Segundo uma recente metanálise, o uso dos antioxidantes, vitamina E, vitamina C, licopeno, resveratrol, N-acetilcisteína (NAC), L-arginina, selênio, coenzima Q10 (CoQ10) e da alicina tem sido descritos na doença, sendo os mesmos suplementados nos estudos de forma isolada ou associados, e em posologia e por tempo de exposição muitas vezes diferentes²¹.

Ainda, de acordo com os mesmos autores, até o presente momento a terapia com antioxidantes orais não previne o surgimento da PE, o que pode ser justificado pelas diferenças metodológicas dos estudos incluídos na metanálise. No entanto, por outro lado, houve uma tendência positiva do uso da suplementação do licopeno na prevenção da PE, e é provável que, em combinação com outras terapias, possa promover efeitos benéficos. Em relação ao tratamento da doença, a L-arginina e as vitaminas C e E apresentaram benefícios sobre os escores de Ápgar e sobre a restrição de crescimento intrauterino (RCIU)²¹.

Tabela 1: Estudos sobre a suplementação de antioxidantes na prevenção da pré-eclâmpsia.

Autores	Antioxidantes suplementados	Dose/ início do tratamento	Achados
Pulido et al. 2016 ²⁵	L-arginina	3 g 3 semanas durante a gravidez e 2 semanas após o nascimento	A pressão arterial materna e a taxa de prematuridade foram significativamente menores no grupo de intervenção, enquanto o peso ao nascer foi maior. Apgar <7 em 5 min não foi diferente entre os grupos e não houve morte neonatal ou materna.
Cardoso et al. 2016 ²⁶	Vitamina C Vitamina E	500 mg 400 UI 12 semanas até o parto	Houve redução de 46% na ocorrência de partos prematuros e de 53% no risco de internação no grupo de intervenção.
Kiondo et al. 2014 ²⁷	Vitamina C	1000 mg 12-22 semanas até o parto	Suplementação de vitamina C não reduziu o risco de baixo peso ao nascer (BPN), natimorto e parto prematuro em mulheres com estado nutricional inadequado. Diminuição significativa no soro de Proteína C-reativa (PCR) e um aumento significativo nos níveis plasmáticos de glutathiona plasmática (GSH). Nenhum efeito significativo no perfil lipídico sérico, na capacidade antioxidante total (CAT) no plasma e nos resultados da gravidez.
Alami-Harandi et al. 2014 ²⁸	Gálico (alicina)	400 mg gálico (1mg alicina) 27 semanas, por 9 semanas	Houve aumento significativo dos níveis plasmáticos de GSH.
Antartani et al.	Licopeno	4 mg 14-28 semanas	Nenhuma diferença significativa em partos

2011 ²⁹		até o parto	prematuros entre os grupos. O resultado perinatal em termos de bebês vivos na alta foi significativamente melhor no grupo de tratamento em comparação com os controles.
Kalpdev et al. 2011 ³⁰	Vitamina C Vitamina E	500 mg 400 UI 16-22 semanas até o parto	Houve uma tendência não significativa para menores complicações relacionadas à hipertensão no grupo de intervenção. Mais mulheres no grupo controle necessitaram de iniciação ou incremento de medicamentos anti-hipertensivos durante a gravidez. Não houve diferença significativa entre os resultados fetais e os níveis de malonaldeído (MDA) entre os dois grupos.
Tara et al. 2010 ³¹	Selênio	100 µg 1º trimestre até o parto	A suplementação de selênio aumentou significativamente as concentrações séricas de selênio a termo. No entanto, não houve diferenças na pressão arterial sistólica e diastólica, colesterol total e frações séricas, triglicérides e PCR de alta sensibilidade entre os grupos.
Roberts et al. 2010 ³²	Vitamina C Vitamina E	1000 mg 400 UI 9- 16 semanas até o parto	As vitaminas C e E não reduziram os resultados maternos ou perinatais adversos em mulheres de alto risco. Não houve diferença significativa nas taxas de pequeno para idade gestacional (PIG), morte fetal ou neonatal,

McCance et al. 2010 ³³	Vitamina C Vitamina E	1000 mg 400 UI 8-22 semanas de gravidez até o parto	descolamento de placenta e RPM (ruptura prematura de membranas) entre os grupos. Não houve diferenças significativas entre os grupos para quaisquer resultados maternos e fetais, incluindo o parto antes de 34 ou 37 semanas, malformação fetal, perda fetal, morte infantil, aborto espontâneo, taxas de admissão ao cuidado neonatal, incluindo terapia intensiva, taxas de diagnósticos respiratórios.
Xu et al. 2010 ³⁴	Vitamina C Vitamina E	1000mg 400 UI 12-18 semanas de gravidez até o parto	Não houve diferença em outros resultados adversos maternos entre os grupos, incluindo as taxas de aborto espontâneo, morte fetal, morte neonatal, nascimento prematuro, RCIU ou FIG.
Banerjee et al. 2009 ³⁵	Licopeno	2 mg 12-20 semanas de gravidez até o parto	Grupo de suplementação de licopeno teve um aumento na incidência de efeitos adversos do trabalho de parto prematuro e BPN.
Teran et al. 2009 ³⁶	CoQ10	200 mg 20 semanas de gravidez até o parto	Não houve diferenças entre os grupos na incidência de BPN e peso médio ao nascer. Não houve mortalidade perinatal. Apenas duas gestações resultaram em parto prematuro e ambos estavam no grupo placebo.
Villar et al.	Vitamina C Vitamina E	1000 mg 400 UI	A suplementação com vitaminas C e E não foi

2009 ³⁷		14-22 semanas de gravidez até o parto	associada à redução da hipertensão gestacional, BPN, PIG e mortalidade perinatal.
Spinnato et al. 2007 ³⁸	Vitamina C Vitamina E	1000mg 400 UI 12- 19 semanas de gravidez até o parto	RPM foi maior no grupo de intervenção. Não houve influência na frequência de BPN, PIG e natimorto, medidas de nascimento, asfixia ou índice de Apgar.
Rumbold et al. 2006 ³⁹	Vitamina C Vitamina E	1000 mg 400 UI 14- 22 semanas de gravidez até o parto	Não houve redução do risco de RCIU e morte ou outros desfechos graves em fetos.
Poston et al. 2006 ⁴⁰	Vitamina C Vitamina E	1000 mg 400 IU 2º trimestre até o parto	A suplementação concomitante com vitamina C e vitamina E aumenta a taxa de bebês nascidos com um BPN.
Beazley et al. 2005 ⁴¹	Vitamina C Vitamina E	1000 mg 400 IU 14- 20 semanas de gravidez até o parto	Não houve diferenças significativas entre os dois grupos em relação à idade gestacional no parto e peso ao nascer dos conceitos.
Sharma et al. 2003 ⁴²	Licopeno	4 mg 16- 20 semanas de gravidez até o parto	O peso médio ao nascer foi maior e houve redução da RCIU no grupo licopeno.
Chappell et al. 1999 ⁴³	Vitamina C Vitamina E	1000 mg 400 IU 16–22 semanas de gravidez até o parto	Suplementação com vitaminas C e E foi associada a uma diminuição na relação PAI-1 / PAI-2. Não houve diferença significativa no peso ao nascer e idade gestacional nas mulheres PE entre os grupos placebo e vitamina.

Legenda: PE – Pré-eclâmpsia; RPM – Ruptura prematura de membranas; RPMP - Ruptura prematura de membranas prematuras; PIG – Pequeno para Idade Gestacional; BPN – Baixo peso ao nascer; RCIU - Restrição de Crescimento Intra-uterino; IUGR: Intrauterine Growth Restriction; PCR –

Proteína C-reativa; GSH – Glutathiona plasmática; CAT – Capacidade antioxidante total; DM – Diabetes *mellitus*; NAC – N-acetil-cisteína; UI – Unidade internacional; CoQ10 - Coenzima Q-10.

Tabela 2: Estudos sobre a suplementação de antioxidantes no tratamento da pré-eclâmpsia.

Autores	Antioxidantes	Dose/ Duração	Achados
Mujawar et al. 2016 ⁴⁴	Vitamina C	1000 mg 20-32 semanas por 45 dias	Os níveis de MDA estiveram significativamente aumentados e de SOD reduzidos em mulheres com PE.
Motawei et al. 2016 ⁴⁵	NAC	400 mg Por 6 semanas	Melhores resultados da gravidez sobre o peso ao nascer e escores de Apgar foram observados entre as pacientes que receberam NAC, mas nenhuma diferença foi demonstrada na incidência de complicações obstétricas e em marcadores de estresse oxidativo.
Wangkhe imayum et al. 2011 ⁴⁶	Vitamina E	400 UI Por 2 semanas	Não foram encontradas correlações entre vitamina E ou sP-selectina com os níveis de pressão arterial ou proteinúria.
Valdivia-Silva et al. 2009 ⁴⁷	L-arginina	3g Após 20 ° semanas de gravidez até o parto	O risco de RCIU foi cinco vezes maior em crianças nascidas de mães com PE sem terapia com L-arginina e foi duas vezes maior em crianças nascidas de PE com terapia com L-arginina. O perfil biofísico fetal e o índice de Apgar foram significativamente mais favoráveis no grupo L-arginina.
Suhail et al. 2008 ⁴⁸	Vitamina C Vitamina E	1000 mg 400 UI 2º trimestre até o parto.	A atividade da SOD diminuiu 23% no grupo não suplementado (A) e 14% no grupo

Roes et al. 2006 ⁴⁹	NAC	600 mg 25-33 semanas até o parto	suplementado (B); GPx diminuiu 27% em A e 5,5% em B; GPx diminuiu 12% em A e 9,6% em B. Atividade de catalase, no entanto, aumentou 27% em A e 29% em B, em comparação ao controle. O NAC oral não estabilizou a PE e/ou a síndrome de HELLP grave. Não houve diferenças nos resultados maternos e neonatais entre os grupos.
Hladunewicz et al. 2006 ⁵⁰	L-arginina	3,5 g a cada 6 horas (via oral) ou 10 g a cada 8 horas (intravenosamente). 6-8 dias antes do parto, 24 horas ou imediatamente antes do parto, até 10 dias após o parto.	Os níveis séricos de arginina no pós-parto aumentaram, mas não foram encontradas diferenças nos níveis de óxido nítrico, endotelina-1, guanosina 3, 5 monofosfato ou assimetria-dimetil-arginina entre os dois grupos com PE. Além disso, não houve diferenças significativas no desfecho primário, taxas de filtração glomerular, pressão arterial e proteinúria.
Rytlewski et al. 2006 ⁵¹	L-arginina	3g 1ª e 2ª semana até o parto	Os valores dos índices de pulsatilidade da artéria umbilical foram significativamente menores no grupo suplementado com L-arginina. Além disso, o tratamento com L-arginina causou aumento significativo dos índices de pulsatilidade da artéria cerebral média e dos valores de razão cérebro-placentária. A latência foi maior no grupo L-arginina. Os neonatos do grupo L-arginina apresentaram maiores escores de Apgar.

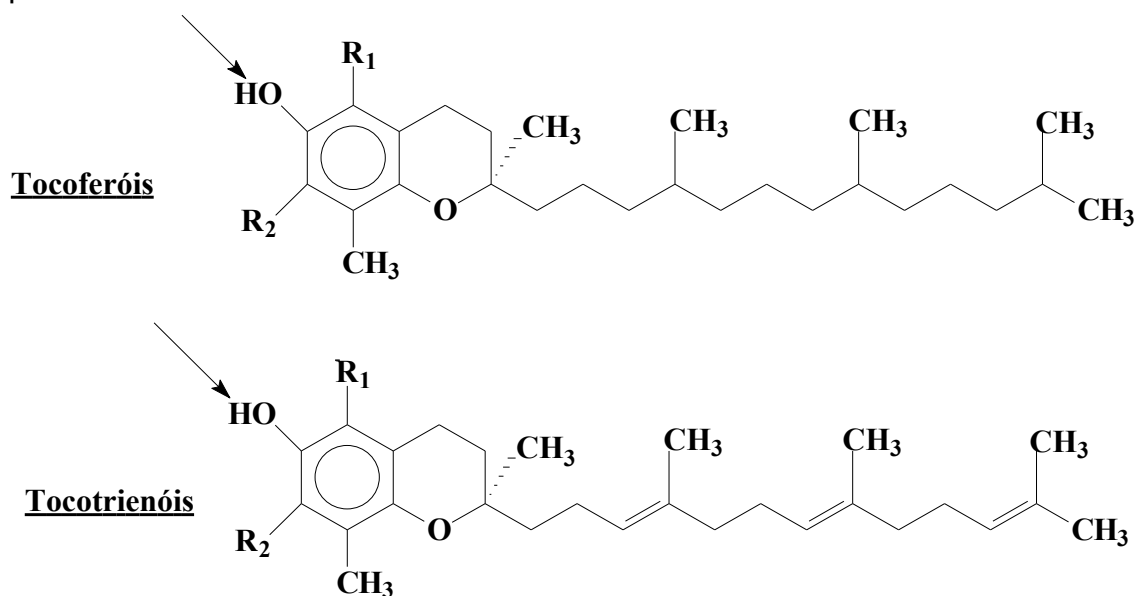
Gülmezo glu et al. 1997 ⁵²	Vitamina C	1000 mg	Houve um aumento no <i>clearance</i> de creatinina antes do parto no grupo de intervenção. Não houve diferenças entre os grupos no tratamento de PE grave.
	Vitamina E	800 UI 24- 32 semanas até o parto	

Legenda: PE – Pré-eclâmpsia; RCIU - Restrição de Crescimento Intra-uterino; SOD – Superóxido dismutase; GPx – Glutathione peroxidase; NAC – N-acetil-cisteína; UI – Unidade internacional.

Compostos Antioxidantes relacionados à pré- eclâmpsia: conceito, estrutura química e ação antioxidante

Vitamina E

Vitamina E (Figura 2) é um termo genérico que se refere aos tocoferóis e tocotrienóis (α , β , δ , γ tocoferol e α , β , δ , γ tocotrienol). Todos estes compostos consistem de um núcleo cromanol com uma cadeia alifática lateral. Esta vitamina é considerada o antioxidante lipossolúvel mais importante presente nas regiões hidrofóbicas, e, portanto, é capaz de atuar na proteção contra a peroxidação lipídica de membranas. Dentre os tipos de tocoferóis, o α -tocoferol é considerado o de maior poder antioxidante⁵³.



Tocoferol/ Tocotrienol	R ₁	R ₂
α	CH ₃	CH ₃
β	CH ₃	H
γ	H	CH ₃
δ	H	H

Figura 2: Estrutura química da Vitamina E. As setas indicam o sítio de oxidação (OH fenólico).

Fonte: Combs et al., 2017⁵³.

Assim, a vitamina E protege os fosfolipídios insaturados das membranas lipídicas da degeneração oxidativa causada por EROs altamente reativas, onde a mesma é capaz de reagir diretamente com uma série de oxirradicais, como o ânion radical superóxido, radical hidroxila, oxigênio singlete, entre outros. A reação *in vivo* deste antioxidante consiste em sua oxidação primeiramente à tocoferil quinona, biologicamente inativa, e, em seguida, à tocoferil hidroquinona⁵⁴.

Vitamina C

A vitamina C (Figura 3) é essencial ao ser humano, visto que o mesmo não é capaz de sintetizá-la a partir da glicose, como acontece com as plantas e outros animais, necessitando, assim, ser obtida através da dieta⁵⁵.

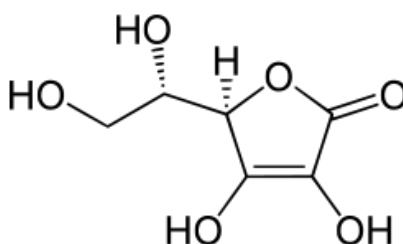


Figura 3: Estrutura química da vitamina C.

Fonte: Singh et al., 2017⁵⁵.

Em pH fisiológico (7,4), 99,95% da vitamina C encontra-se na forma de ascorbato, que é a forma que atua como antioxidante, ação realizada através da doação de um hidrogênio ou elétron para um RL. O ascorbato atua como antioxidante sobre as EROs e as espécies reativas de nitrogênio (ERNs), em ambiente biológico aquoso, resultando na formação do ânion radical semidesidroascorbato, ou ascorbila, que é pouco reativo⁵⁶.

A vitamina C é considerada o mais importante antioxidante em fluidos extracelulares, pois o ascorbato atua eficientemente sobre o ânion radical superóxido, sobre o peróxido de hidrogênio, sobre o radical hidroxila e o radical peroxila e ainda sobre o oxigênio singlete. O ascorbato pode atuar diretamente nas membranas celulares, por impedir o início da peroxidação lipídica ou indiretamente por regenerar a vitamina E, que atua como antioxidante na fase lipofílica da membrana⁵⁶.

Licopeno

O licopeno (ψ,ψ -carotene, (Figura 4)) é um dos 600 pigmentos da classe dos carotenóides encontrados na natureza, sendo um dos 25 carotenóides presentes no plasma e tecidos de humanos. Caracterizado por uma estrutura simétrica e acíclica, é formado apenas por átomos de carbono e hidrogênio, contendo 11 ligações duplas conjugadas e 2 ligações não conjugadas. O mesmo é considerado um potente antioxidante protetor da camada celular por reagir com os radicais peróxidos e com o oxigênio molecular⁵⁷.

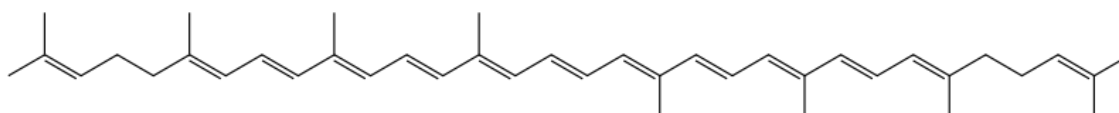


Figura 4: Estrutura química do licopeno.

Fonte: Ribeiro et al., 2018⁵⁷.

O licopeno é responsável pela coloração vermelho-alaranjada dos vegetais, o que inclui as frutas, e a sua biodisponibilidade parece estar relacionada às suas formas isoméricas apresentadas, onde o calor é responsável pela modificação dessa forma isomérica, o que favorece o aumento da sua absorção. Sua absorção também é influenciada pela quantidade de gordura da refeição e sofre interferência de algumas fibras, a exemplo a pectina, que podem reduzir a absorção do mesmo devido ao aumento da viscosidade. Alguns carotenoides, como a luteína e o β -caroteno, também podem afetar a biodisponibilidade do licopeno, devido a uma competição durante a absorção intestinal do mesmo⁵⁸.

Adicionalmente, a concentração de licopeno nos vegetais varia de acordo com a estação do ano, estágio de maturação, variedade, efeito climático e geográfico, local de plantio, manejo pós-colheita e do armazenamento; de uma forma geral, quanto mais avermelhado for o alimento, maior será sua concentração de licopeno. As maiores concentrações de licopeno estão, em geral, nas cascas dos alimentos fontes, quando comparadas à polpa dos mesmos frutos, sendo sua maior concentração em alimentos produzidos em regiões de climas quentes⁵⁸.

Resveratrol

O Resveratrol (3,5,4'-trihidroxi-droxiestilbeno (Figura 5)), é considerado uma fitoalexina polifenólica de ocorrência natural em muitas plantas e seus frutos e produtos processados, como uvas, frutas vermelhas, vinho tinto e amendoim, onde o mesmo é denominado um potente agente antioxidante⁵⁹.

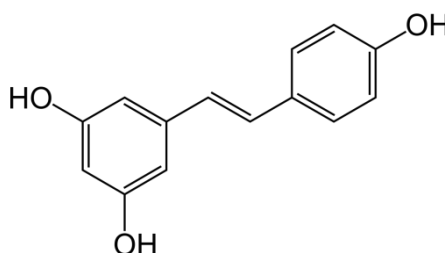


Figura 5: Estrutura química do resveratrol.

Fonte: Tellone et al., 2009⁵⁹.

Dentre as ações antioxidantes do resveratrol, estão: Competir com a coenzima Q10, diminuindo a atividade da cadeia oxidativa e, conseqüentemente, a produção de EROs; Sequestrar, efetivamente, os radicais ânion superóxido e hidroxila produzidos na cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria; Inibir a peroxidação lipídica induzida pelos produtos da reação de Fenton; Estimular a atividade das enzimas antioxidantes glutatona transferase, GPX e SOD e diminuir a oxidação de grupos tiois das proteínas presentes nas plaquetas⁵⁹.

N-acetil-cisteína (NAC)

A NAC (Figura 6) é considerada um antioxidante doador de grupos tiois, onde o seu potencial efeito é atribuído à diminuição dos níveis de peróxido de hidrogênio e de radical hidroxila pelo aumento da disponibilidade e redução de GSH, alterando o equilíbrio da capacidade oxidante-antioxidante. Por sua vez, a GSH, em sua forma reduzida, tem um importante papel no mecanismo de defesa contra RLs, por diminuir o conteúdo de peróxido de hidrogênio e alterar o equilíbrio da capacidade oxidante-antioxidante pulmonar⁶⁰.

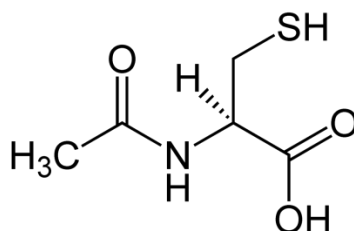


Figura 6: Estrutura química da N-acetil-cisteína.

Fonte: Paschalis et al., 2018⁶⁰.

Dentre as suas propriedades farmacológicas antioxidantes estão a restauração dos estoques reduzidos de GSH, a vasodilatação pela reposição de óxido nítrico através do aumento de sulfidrilas e a redução da produção de citocinas pro-inflamatórias como interleucina 8 e fator de necrose tumoral (TNF- α)⁶⁰.

L-arginina

A L-arginina (ácido 2-amino-5-guanidino-pentanoico, (Figura 7)) é considerada um aminoácido básico e hidrofílico, sendo denominado em termos nutricionais como um aminoácido condicionalmente essencial ou condicionalmente indispensável.

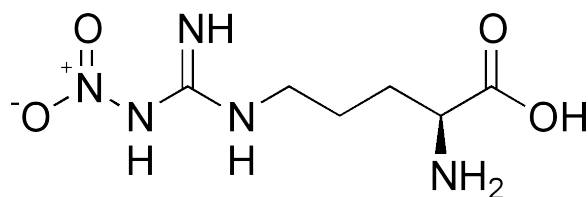


Figura 7: Estrutura química da L-arginina.

Fonte: Gad et al., 2010⁶¹.

Quanto a sua biodisponibilidade, uma vez assimilada pelo trato digestivo, 60% da L-arginina entra na circulação hepática, sendo o restante metabolizado pelo intestino. Uma porção substancial de L-arginina que consegue entrar na circulação hepática acaba sendo rapidamente catabolizada por enzimas arginases, responsáveis pela conversão da arginina livre em ureia e ornitina⁶¹.

Especificamente, a L-arginina tem um papel primordial em numerosas vias metabólicas no corpo humano. Como exemplo, a conversão da L-arginina em L-ornitina e ureia, no ciclo da ureia, é crucial para a remoção de compostos

nitrogenados tóxicos ao organismo. Adicionalmente, a L-arginina atua na produção de óxido nítrico pela ação de enzimas NOS encontradas em diversos tecidos humanos sob diferentes isoformas, sendo duas constitutivas, NOS neuronal (nNOS) e NOS endotelial (eNOS), e uma indutiva (iNOS) associado ao sistema imunitário. Por outro lado, A L-arginina também apresenta capacidade timotrófica e atua como precursora de prolina e hidroxiprolina, substâncias necessárias para a síntese de tecido conectivo⁶².

A L-arginina atua indiretamente como antioxidante na PE à medida que ao aumentar a produção de óxido nítrico, visto que é precursor deste, reduz a síntese de ânion radical superóxido, uma vez que o óxido nítrico tem a capacidade de se ligar a esse RL, produzindo espécie reativa (peroxinitrito) menos deletéria ao organismo⁶³.

Selênio

O selênio é considerado um micronutriente essencial, visto que não pode ser sintetizado pelo ser humano, assim precisa ser consumido necessariamente pela dieta, sendo suas principais fontes os cereais, as carnes, ovos e leite⁶⁴.

O selênio está envolvido em diversos processos orgânicos, desempenhando funções variadas, que incluem a participação na conversão do T4 em T3, a proteção contra a ação nociva de metais pesados e xenobióticos, a redução dos riscos de doenças crônicas não transmissíveis, aumento da resistência do sistema imunológico e a capacidade antioxidante, onde esta última está relacionada a sua capacidade de incorporação a enzimas antioxidantes, como a GPx, bem como atuando como co-fator da enzima SOD⁶⁴.

Coenzima Q10 (CoQ10)

A CoQ10 (Ubidecarenona) (Figura 8), é uma benzoquinona presente em praticamente todas as células do organismo e que participa dos processos de produção de adenosina trifosfato (ATP). Considerada essencial nesse processo, órgãos com maior demanda energética como o coração, o cérebro, rins e fígado, apresentam maiores concentrações de CoQ10. A mesma pode ser obtida da dieta ou de suplementos alimentares, mas é também produzida endogenamente. Carne, aves e peixes apresentam as maiores fontes de CoQ10. Pequenas quantidades são encontradas em cereais, soja, nozes e vegetais, particularmente espinafre e brócolis⁶⁵.

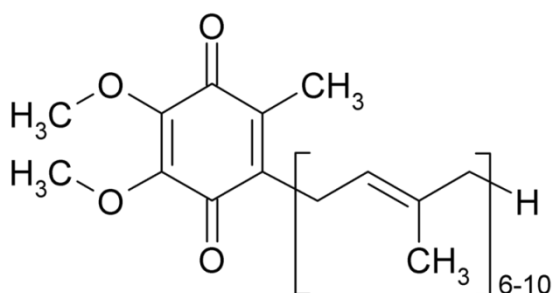


Figura 8: Estrutura química da Coenzima Q-10.
Fonte: Yubero-Serrano et al., 2014⁶⁵.

A CoQ10 possui várias funções no metabolismo celular, sendo a principal aquela exercida pela sua forma quinona, a qual transfere elétrons na cadeia de transporte de elétrons mitocondrial dos complexos I e II para o complexo III, processo durante o qual prótons são bombeados para o espaço intermembranar gerando assim um gradiente eletroquímico transmembrana usado na fosforilação oxidativa. Já a sua forma quinol atua como um potente antioxidante na membrana mitocondrial interna, pois inibe a peroxidação lipídica, ou por apresentar um efeito sequestrante de RLs, ou reduzindo o radical α -tocoferoxil a α -tocoferol⁶⁵.

Alicina

A alicina (2-propeno-1-ácido sulfinotióico S-2 éster propenílico, (Figura 9)), substância responsável pelo odor característico do alho, é liberada como forma de defesa contra agressões externas, sendo sintetizada por ação da alinase sobre a aliina que permite a formação do intermediário ácido sulfenico que logo é convertido a alicina. Sua propriedade antioxidante é caracterizada pelo sequestro de radical hidroxila, uma dos mais potentes e deletéricos RLs⁶⁶.

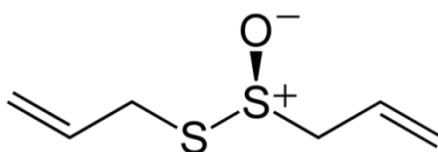


Figura 9: Estrutura química da alicina.

Fonte: Miron et al., 2000⁶⁶.

A alicina possui atividade reduzida em elevadas temperaturas, devido a sua desnaturação. A sua concentração no alho irá depender do estágio de maturação do fruto, da localização na planta, das práticas de cultivo, do processamento, armazenamento e manipulação. A realização de estudos *in vivo* é dificultada devido a sua instabilidade, pois o mesmo é decomposto rapidamente na presença de outros compostos, ficando difícil sua determinação e estabilização, por ser também um composto delicado de sintetizar e armazenar em condições normais⁶⁶.

Já um estudo *in vitro* realizado com a alicina mostrou o aumento sobre os níveis de glutathione, enzima importante na defesa antioxidante do organismo⁶⁷. Por outro lado, a alicina também possui efeito antioxidante sobre as Lipoproteínas de baixa densidade (LDL) por bloquear a peroxidação lipídica por inibição da enzima xantina-oxidase e de eicosanoides⁶⁸.

Papel da inflamação na pré-eclâmpsia

Na gestação de mulheres com PE há uma resposta inflamatória exacerbada quando comparada com grávidas sem PE. Existem mecanismos que explicam essa situação. Uma das explicações é a hipóxia útero-placentário, os estudos mostram que essa situação acarreta a produção anormal das citocinas pró- inflamatórias em pacientes que desenvolvem PE, dentre elas o TNF- α que, por sua vez, estimula a síntese de uma série de outras citocinas como IL-1, IL-6 e IL-8⁶⁹.

A hipóxia, por sua vez, também aumenta a resposta imune Th1 caracterizada pela produção de interferon gama (IFN- γ) que está envolvido na regulação das respostas imunológicas e inflamatórias. Adicionalmente a ativação do sistema imunológico na PE, há um desequilíbrio entre os fatores angiogênicos e anti-angiogênicos, desempenhando um papel central na patogênese da doença. A hipóxia também acarreta aumento no estresse oxidativo, o que acarreta em produção excessiva de citocinas inflamatórias em gestantes com PE⁷⁰⁻⁷².

A conseqüente redução da perfusão placentária e hipóxia associada na PE, gera um quadro de estresse oxidativo. O sinciotrofoblasto (camada superficial multinucleada nas vilosidades coriônicas) passa a apresentar maior atividade de apoptose/necrose, liberando, na circulação materna, grande quantidade de material sincicial e fatores antiangiogênicos produzidos como conseqüência da hipóxia⁷³. Tais partículas provocam ativação de leucócitos sistêmicos, geram estímulos para maior adesão plaquetária, vasoconstrição e resposta inflamatória generalizada. Essa resposta inflamatória é mediada principalmente por citocinas pró-inflamatórias como TNF (fator de necrose tumoral), INF-gama (interferon-gama) e IL-6 (interleucina-6). Recentemente, Germain et al.⁷⁴ (2007) relatam que tais fragmentos oriundos do processo necrótico sincicial favorecem a produção de citocinas inflamatórias por monócitos circulantes, atuando no desencadeamento e da sustentação da resposta inflamatória na PE.

Além disso, o aumento do estresse oxidativo favorece a ativação do fator nuclear kappa B (NF-KB), que é um fator envolvido na transcrição de diversos genes relacionados com a resposta imune e inflamatória. Está localizado no citoplasma celular, e quando ativado, ocorre a fosforilação de I κ B (proteína inibitória kappa B), permitindo a translocação de suas subunidades p50 e p65 para o interior do núcleo celular, onde estimula a transcrição de diversos mediadores pró-inflamatórios tais como: molécula de adesão intracelular 1 (ICAM-1) e molécula de adesão vascular celular 1 (VCAM-1); e citocinas como a IL-6 e o TNF- α ⁷⁵. Além disso, o estresse oxidativo também pode levar à diminuição da regulação do potássio endotelial ativado por cálcio que contribuem significativamente para o relaxamento dependente do endotélio⁷⁶.

Assim, pode-se concluir que a hipóxia uteroplacentária apresenta um papel importante como direcionador do processo inflamatório, através da expressão anormal de citocinas, embora haja muita incerteza quanto à causa/efeito na relação dela com desenvolvimento da PE. Ressalta-se que a gravidez já é considerada um estado orgânico inflamatório, pois a inflamação é necessária para a reprodução bem sucedida. A implantação de embrião, invasão trofoblástica das artérias espiraladas uterinas e o parto são exemplos de eventos inflamatórios, porém o que diferencia as gestantes saudáveis daquelas com PE é que, nas últimas, o processo inflamatório é exacerbado devido a tais mecanismos explicados anteriormente^{77,78}.

Compostos anti-inflamatórios sugeridos e utilizados na prevenção e/ou tratamento da pré-eclâmpsia

De acordo com os achados científicos, os ácidos graxos ômega-3 (w-3) constituem o único composto anti- inflamatório estudado com tal finalidade na PE, sendo que este pertence a uma das duas principais famílias dos ácidos graxos polinsaturados. O ácido alfa-linolênico ou α -linolênico (ALA) é o membro mais simples desta família. O ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido

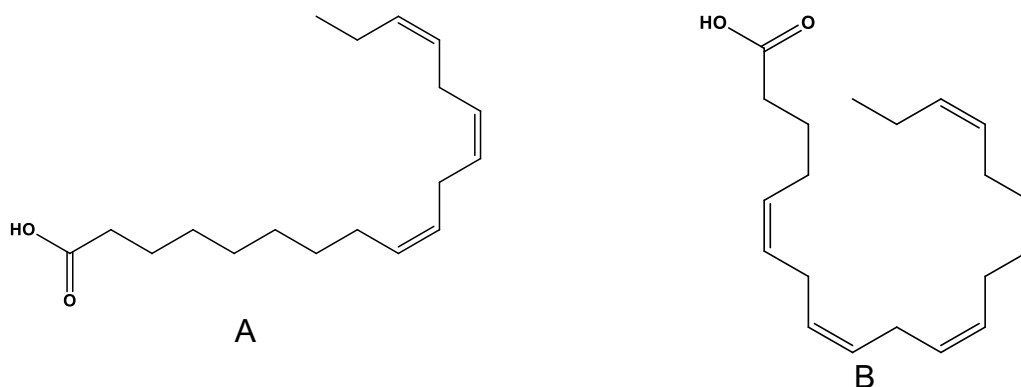
docosahexaenóico (DHA), são juntamente com o ALA, os membros mais importantes desta família⁷⁹, estando a sua estrutura representada na Figura 10.

O w-3 é encontrado em alimentos de origem vegetal e de origem animal. Os alimentos de origem vegetal terrestres são fontes de ALA que, no organismo humano, pode ser convertido a DHA e EPA. Já as principais fontes de DHA e EPA são de origem animal e marinha, onde podem ser encontrados no óleo de microalga, óleo de peixe, salmão, sardinha, caranguejo, camarão, ostras, arengue e cavalinha. Dos óleos das sementes de linhaça, canola, soja e da chia, pode ser extraído o ALA⁸⁰.

Diversos estudos têm demonstrado os efeitos benéficos dos ácidos graxos w-3 sob a saúde: no metabolismo lipídico, promovendo redução nos níveis plasmáticos dos triacilgliceróis, aumento de HDL colesterol, na saúde materno-infantil, e, ação anti-inflamatória ao reduzir a síntese de derivados do ácido araquidônico: prostaglandina E2 (PGE2), tromboxano A2 (TXA2), prostaciclina (PGI2) e leucotrieno B4^{81,82}.

Dessa forma, nas últimas décadas os pesquisadores estudaram a suplementação com w-3, proposta como uma estratégia potencial para prevenir a PE, devido aos efeitos do w-3 na modulação da função inflamatória e vascular⁸³⁻⁸⁵. A maioria desses ensaios e revisões sistemáticas posteriores produziram resultados negativos. Na meta-análise de 6 ensaios clínicos randomizados de Szajewska et al.⁸⁶ (2006) não houve diferença significativa na taxa de PE entre os grupos suplementado com w-3 e não suplementado. Achados semelhantes foram relatados por uma revisão Cochrane composta por 5 ensaios clínicos randomizados em que não houve diferenças no risco de pressão arterial elevada ou incidência de PE (quatro ensaios, 1.683 mulheres) entre os grupos que receberam o w-3 e controle. Na metanálise realizada por Chen et al.⁸⁷ (2015) a suplementação com w-3 não reduziu o risco da PE. Ressalta-se que os estudos vêm mostrando que mulheres com PE têm níveis alterados de ácidos graxos polinsaturados. São observados níveis reduzidos de DHA no eritrócito materno de gestantes com PE. O aumento do estresse oxidativo é um possível fator causador que leva a níveis mais baixos de DHA no plasma nas mães com PE^{88,89}.

No entanto, até o momento, há incertezas clínicas quanto a eficácia do aumento da ingestão de w-3 durante a gravidez na redução do risco de PE, sendo necessários mais ensaios clínicos randomizados de maior escala que avaliem a eficácia do w-3 sobre a PE, assim ainda não foram estabelecidas recomendação específica para sua ingestão no que diz respeito a referida doença ^{90,91}.



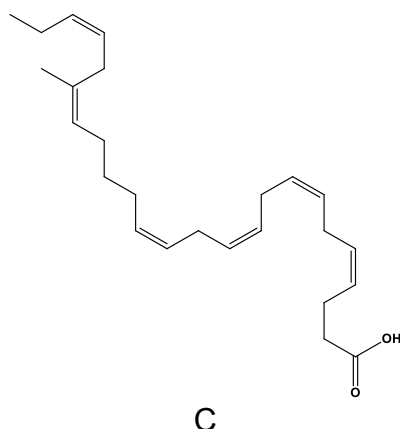


Figura 10: Estrutura química dos ácidos graxos da família ômega-3. (A) ácido α -linolênico, (B) ácido eicosapentaenoico e (C) ácido docosahexaenóico.
Fonte: Yehuda et al., 2002⁷⁹.

Conclusão

Diante do exposto neste capítulo, apesar da fisiopatologia da PE não ser totalmente esclarecida, evidencia-se o papel do estresse oxidativo e da inflamação na doença, reforçando a necessidade de intervenções clínicas e nutricionais eficazes, baseadas em achados científicos, voltadas para a sua prevenção e tratamento.

Dessa forma, é necessário que mais pesquisas sejam realizadas visando o esclarecimento completo da PE, para assim, favorecer o manejo adequado e minimizar suas complicações à saúde, considerando as altas taxas de morbimortalidade materna e fetal em todo o mundo.

Contudo, apesar de vários estudos estarem sendo desenvolvidos nesse âmbito, os resultados permanecem contraditórios, o que dificulta o estabelecimento de uma recomendação segura no que se refere à suplementação de antioxidantes, bem como as possíveis dosagens.

Caso clínico

Gestante, M.A.R., 40 anos, natural e procedente de Murici-AL, raça negra, na 26ª semana de sua primeira gestação, foi encaminhada para internamento em maternidade de alto risco por apresentar sintomas como cefaleia, turvação visual e dor abdominal, além de pressão arterial elevada (PA = 180/110 mmHg). Nega etilismo, refere tabagismo anteriormente a descoberta da gestação, nega história pessoal de hipertensão arterial, porém refere mãe hipertensa e com PE diagnosticada em duas gestações. Afirma possuir estilo de vida sedentário. Os resultados da avaliação antropométrica e dos exames bioquímicos podem ser observados no quadro abaixo:

DADOS ANTROPOMÉTRICOS		
Peso	pré-	62 kg

gestacional	
Peso atual	76 kg
Altura	1,53 m
IMC pré- gestacional	26,48 kg/m ²
IMC atual	32,46 kg/m ²
DADOS BIOQUÍMICOS	
Glicemia de jejum	98 mg/dL
Colesterol total	234 mg/dL
Colesterol HDL	35 mg/dL
Colesterol LDL	154 mg/dL
Triglicerídeos	194 mg/dL
Uréia	40,3 mg/ dL
Creatinina	1,80 mg/ dL
Proteinúria (24 horas)	475 mg

Sobre o caso acima, responda o que se pede:

- 1- A referida paciente recebeu o diagnóstico de pré-eclâmpsia grave. Com base em que critérios citados no caso foi possível a equipe médica chegar a esse diagnóstico?

Resposta: De acordo com os critérios diagnósticos para PE grave, os sintomas do caso acima que a caracterizam são elevação dos níveis pressóricos (180/110 mmHg) proteinúria 24 horas elevada (475 mg), cefaleia, turvação visual, dor abdominal e elevação dos níveis séricos de creatinina, caracterizando alteração na função renal

- 2- De acordo com os fatores de risco bem estabelecidos na literatura para a pré-eclâmpsia, quais deles podem ser identificados no caso em questão?

Resposta: Idade igual a 40 anos, raça negra, nulípara, história familiar de PE e excesso de peso.

- 3- Considerando que o papel do estresse oxidativo na pré-eclâmpsia é bem estabelecido, descreva, resumidamente, como ocorre o processo de placentação inadequado que culmina com quadros de hipóxia/ reperfusão, dando origem ao estresse oxidativo na doença.

Resposta: O processo de invasão trofoblástica deficiente no início da gestação, característico da PE, acarreta na persistência das características das artérias espiraladas do útero materno, as quais, mantendo sua alta resistência, comprometem o fornecimento de sangue oxigenado para placenta e feto. Com isso, o sangue fornecido para tais regiões chegará através de jatos de alta pressão, sendo marcado por um processo repetido de hipóxia/ reperfusão, o que culmina com um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, dando origem ao estresse oxidativo.

Questões de múltipla escolha

1. Dentre os fatores de risco para PE descritos na literatura, NÃO está incluído:

- a) Nuliparidade
- b) História familiar
- c) Desnutrição
- d) Condições clínicas pré-existentes, como doença renal e hipertensão arterial.

Gabarito: letra C

Comentário: A literatura científica descreve fatores de risco bem estabelecidos para a PE, que incluem: idade ≥ 40 anos, nuliparidade, PE prévia, história familiar de PE, gestações múltiplas, condições clínicas pré-existentes, como diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica e doença renal, presença de doenças autoimunes, índice de massa corporal caracterizando excesso de peso e cor da pele negra.

2. Apesar da fisiopatologia da PE não ser ainda totalmente esclarecida, são sugeridas algumas condições capazes de interagir e determinar suas características clínicas, incluindo-se:

- I- Placentação deficiente
- II- Disfunção endotelial
- III- Exacerbação da resposta inflamatória
- IV- Estresse oxidativo

Estão corretas:

- a) Apenas I
- b) Apenas I e IV
- c) Apenas III e IV
- d) Todas as alternativas

Gabarito: letra D

Comentário: Dentre as hipóteses sugeridas como envolvidas na fisiopatologia da PE, destacam-se alguns fatores capazes de interagir e determinar as manifestações características da PE: placentação deficiente, angiogênese inadequada, disfunção endotelial, exacerbação da resposta inflamatória, problemas na adaptação imunológica e estresse oxidativo.

3. O processo de invasão trofoblástica deficiente que ocorre na PE no início da gestação, acarreta em:

- a) Fornecimento de sangue de forma excessiva para a placenta e o feto
- b) Comprometimento do fluxo de sangue oxigenado para a placenta e o feto
- c) Aumento no calibre das artérias espiraladas uterinas
- d) Não há alteração no fluxo sanguíneo para a unidade feto-placentária

Gabarito: letra B

Comentário: O processo de invasão trofoblástica deficiente no início da gestação, característico da PE, acarreta na persistência das características das artérias espiraladas do útero materno, as quais, mantendo sua alta resistência, comprometem o fornecimento de sangue oxigenado para placenta e feto. Com isso, o sangue fornecido para tais regiões chegará através de jatos de alta pressão, sendo marcado por um processo repetido de hipóxia/reperfusão, o que culmina com um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, dando origem ao estresse oxidativo.

4. As complicações hipertensivas na gravidez são a maior causa de morbidade e mortalidade materna e fetal no Brasil. Dentre as afirmações abaixo, está INCORRETA:

- a) A Pré-eclâmpsia é um estado hipertensivo acima da 20ª semana de gravidez, acompanhada de proteinúria em 24 horas com valor maior ou igual a 300 mg.
- b) Na Pré-eclâmpsia podem ocorrer outros sintomas, incluindo cefaleia, turvação visual, dor abdominal, plaquetopenia ($< 100.000/mm^3$), elevação de enzimas hepáticas, disfunção renal, edema pulmonar, distúrbios visuais ou cerebrais, escotomas ou convulsão.
- c) A Pré-eclâmpsia é uma síndrome de gravidez específica caracterizada por hipertensão (PA $\geq 140 \times 90$ mmHg) e proteinúria (≥ 300 mg/24 horas) podendo aparecer em qualquer momento da gestação.
- d) A Pré-eclâmpsia é uma complicação grave da gravidez, que acomete de 5 a 7% das gestantes.

Gabarito: letra C

Comentário: A PE é uma síndrome de gravidez específica caracterizada por hipertensão (PA $\geq 140 \times 90$ mmHg) e proteinúria (≥ 300 mg/24 horas) após a 20ª semana de gestação.

5. Sobre o estresse oxidativo, assinale a alternativa correta:

- a) Em gestações normais não existe estresse oxidativo
- b) Não influencia no processo inflamatório presente na PE
- c) Consiste no desequilíbrio entre a produção ERONs e o sistema de defesa antioxidante
- d) Seu desenvolvimento é independente do processo de hipóxia característico da PE

Gabarito: letra C

Comentário: O estresse oxidativo consiste no desequilíbrio entre a produção ERONs e o sistema de defesa antioxidante. Na PE, em decorrência da anormalidade placentária já descrita anteriormente, o processo de hipóxia acarreta, conseqüentemente, em redução nos níveis de compostos e enzimas antioxidantes presentes no organismo, favorecendo uma produção exacerbada de ERONs, o que conduz ao aumento da peroxidação lipídica, inflamação e dano

celular. Contudo, vale ressaltar que o EO também está presente em baixo grau em gestações normais, desenvolvendo importantes ações de sinalização celular.

6. No que se refere à prevenção e tratamento convencional da PE, podemos afirmar:

- I- Suplementação de compostos antioxidantes e anti-inflamatórios é bem estabelecida
- II- Restrição dietética de sal
- III- Medicamentos anti- hipertensivos
- IV- Retirada da placenta, a partir da finalização da gestação

Estão corretas:

- a) Apenas I
- b) Apenas II e III
- c) Apenas IV
- d) II, III e IV

Gabarito: letra D

Comentário: Atualmente, não existe na literatura um consenso acerca das melhores estratégias de prevenção e tratamento da PE, especialmente no que se refere à nutrição. Contudo, apesar dos resultados ainda serem controversos, estudos vêm sendo realizados considerando a suplementação de compostos antioxidantes, bem como de compostos anti-inflamatórios, visando minimizar o estresse oxidativo e a inflamação, que já são bem documentadas na doença. Por sua vez, o tratamento conservador da PE inclui a restrição dietética de sal e a utilização de medicamentos anti-hipertensivos. Por sua vez, o tratamento definitivo para a PE inclui a finalização da gravidez, que culmina com a retirada da placenta do organismo materno.

7. A suplementação de antioxidantes tem sido descrita como estratégia tanto na prevenção como no tratamento na pré-eclâmpsia. Dentre os compostos abaixo, qual não atua sobre a doença:

- a) Melatonina
- b) Licopeno
- c) Resveratrol
- d) Vitamina C

Gabarito: letra A

Comentário: Dentre as substâncias citadas nas alternativas, apenas melatonina não é considerada antioxidante e não está envolvida no tratamento da pré-eclâmpsia.

8. O termo genérico Vitamina E se refere as classes de compostos denominas tocoferóis e tocotrienóis. Dentro os tipos, qual o considerado o mais potente antioxidante?

- a) α -tocoferol
- b) β -tocoferol
- c) δ -tocoferol
- d) γ -tocoferol

Gabarito: letra A

Comentário: Dentre os tipos de vitamina E, o α -tocoferol é considerado o mais potente.

9. Qual dos antioxidantes abaixo é considerado o mais importante antioxidante em fluídos extracelulares?

- a) Vitamina C
- b) Vitamina E
- c) Vitamina A
- d) Selênio

Gabarito: letra A

Comentário: A vitamina C é considerada o antioxidante mais importante nos fluidos celulares, por ser hidrossolúvel. Vitamina E e A são antioxidantes lipossolúveis e assim não presentes nos fluidos celulares e o selênio faz parte de enzima antioxidante apenas.

10. O Resveratrol é considerado uma fitoalexina polifenólica de ocorrência natural em muitas plantas e seus frutos e produtos processados, como uvas, frutas vermelhas, vinho tinto e amendoim, onde o mesmo é denominado um potente agente antioxidante. Dentre as suas funções antioxidantes estão:

- I. Competir com a coenzima Q10, diminuindo a atividade da cadeia oxidativa e, conseqüentemente, a produção de EROs;
- II. Sequestrar os radicais ânion superóxido e hidroxila produzidos na cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria;
- III. Inibir a peroxidação lipídica induzida pelos produtos da reação de Fenton;
- IV. Estimular a atividade das enzimas antioxidantes glutatona transferase, GPX e SOD.

Estão corretas:

- a) Todas as alternativas
- b) I e II, apenas
- c) I, II e III, apenas
- d) II e IV, apenas

Gabarito: letra A

Comentário: Todas as funções acima são pertinentes a ação do resveratrol como antioxidante.

11. A alicina é a substância responsável pelo odor característico do alho, é liberada como forma de defesa contra agressões externas. Dentre as suas funções está sua atividade como antioxidante, que pode ser atribuída a (s):

- I. Sequestro do ânion radical superóxido
- II. Aumento da atividade da enzima superóxido dismutase
- III. Bloqueio da peroxidação lipídica nas lipoproteínas de baixa densidade (LDLs).

Estão corretas:

- a) Apenas III
- b) Todas as alternativas
- c) Apenas II
- d) Apenas I

Gabarito: letra A

Comentário: A alicina é considerada um potente antioxidante por agir bloqueando a peroxidação lipídica nas LDLs, não atuando sobre o sequestro de ânion radical superóxido e nem aumentando a atividade da superóxido dismutase.

12. Considerando a importância biológica dos ácidos graxos ômega 3 sobre a PE, assinale a alternativa incorreta.

- a) A suplementação de ácidos graxos ômega 3 não é indicada em gestantes com PE, pois estudos ainda apresentam controversas.
- b) Os ácidos graxos ômega 3 têm ação comprovada e eficaz no tratamento da PE.
- c) Os ácidos graxos ômega 3 têm ação na modulação da função inflamatória e vascular na PE.
- d) O w-3 é encontrado em alimentos de origem vegetal e de origem animal e exerce efeitos benéficos na saúde materno infantil, no metabolismo lipídico, promovendo redução nos níveis plasmáticos dos triacilgliceróis, aumento de HDL colesterol e, ação anti-inflamatória.

Gabarito: letra B

Comentário: Estudos recentes concluíram que os atuais resultados não suportam a suplementação ácidos graxos ômega 3 no tratamento da PE.

13. Dentre as funções dos ácidos graxos ômega- 3 na PE descritos na literatura está incluído:

- a) Anti-inflamatória
- b) Antifúngica
- c) Pró-oxidante
- d) Melhora o sistema imunológico

Gabarito: letra A

Comentário: Os ácidos graxos ômega 3 têm ação na modulação da função inflamatória e vascular na PE.

Referências

1. World Health Organization (WHO). WHO recommendations for prevention and treatment of pre-eclampsia and eclampsia. Geneva: WHO, 2011. 48p.
2. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ*. 2005; 330(7491):565-71.
3. Oliveira ACM, Santos AA, Bezerra AR, Barros AMR, Tavares MCM. Fatores maternos e resultados perinatais adversos em portadoras de pré-eclâmpsia em Maceió, Alagoas. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. Maceió- AL, 2016. In press. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/abc/2016nahead/pt_0066-782X-abc-20150150.pdf. Acesso em: 20 nov. 2018.
4. Sheppard BL, Bonnar J. An ultrastructural study of utero-placental spiral arteries in hypertensive and normotensive pregnancy and fetal growth retardation. *Br J Obstet Gynaecol*. 1981; 88(7):695-705.
5. Pijnenborg R, Anthony J, Davey DA, Rees A, Tiltman A, Vercruyse L, *et al*. Placental bed spiral arteries in the hypertensive disorders of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol*. 1991; 98(7):648-55.
6. Gathiram P, Moodley J. Pre-eclampsia: its pathogenesis and pathophysiology. *Cardiovascular journal of Africa*. 2016; 27(2):71-8.
7. Oliveira LG, Karumanchi A, Sass N. Pré- eclâmpsia: estresse oxidativo, inflamação e disfunção endotelial. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2010; 32(12):609-16.
8. Mol BWJ, Roberts CT, Thangaratnam S, Magee LA, Groot CJM, Hofmeyr GJ. Pre- eclampsia. *The Lancet*. 2015; 6736(15):70-7.
9. World Health Organization (WHO). Recomendações da oms para a Prevenção e tratamento da pré- Eclâmpsia e da eclâmpsia. Geneva: WHO, 2013. 5p.
10. Roberts JM, Lain KY. Recent insights into the pathogenesis of pre-eclampsia. *Placenta*. 2002; 23(5):359-72.
11. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet*. 2005; 365(9461):785-99.

12. Abalos E, Cuesta C, Grosso AL, Chou D, Say L. Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013; 170, 1-7.
13. ACOG. Practice Bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol.* 2002; 99(1):159-67.
14. Ogge G, Chaiworapongsa T, Romero R, Hussein Y, Kusanovic JP, Yeo L, et al. Placental lesions associated with maternal underperfusion are more frequent in early-onset than in late-onset preeclampsia. *J Perinat Med.* 2011; 39(6):641-52.
15. von Dadelszen P, Magee LA, Kraiden M, Alasaly K, Popovska V, Devarakonda RM, et al. Levels of antibodies against cytomegalovirus and *Chlamydia pneumoniae* are increased in early onset pre-eclampsia. *BJOG* 2003; 110:725–30.
16. Huppertz B. Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. *Hypertension.* 2008; 51:970–5.
17. Freire CMV; Tedoldi CL. Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia para Gravidez na Mulher Portadora de Cardiopatia. *Arq Bras Cardiol* 2009; 93(6 supl.1): e110-e178.
18. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. *Gestação de alto risco: manual técnico / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. – 5. ed. – Brasília : Editora do Ministério da Saúde, 2012. 302 p. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos).*
19. Sanchez-Aranguren LC, Prada CE, Riaño-Medina CE, Lopez M. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress. *Frontiers in Physiology.* 2014; 5(372):1-11.
20. Gupta S, Agarwal A, Sharma RK. The role of placental oxidative stress and lipid peroxidation in preeclampsia. *Obstetrical and gynecological survey.* 2005; 60(12):807-16.
21. Tenório MB, Ferreira RC, Moura FA, Bueno NB, Goulart MOF, Oliveira ACM. Oral antioxidant therapy for prevention and treatment of preeclampsia: Meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases.* 2018;28: 865-76.
22. Smuts CM, Huang M, Mundy D, Plasse T, Major S, Carlson SE. A randomized trial of docosahexaenoic acid supplementation during the third trimester of pregnancy. *Obstetrics and Gynecology.* 2003; 101:469–79.

23. Olsen SF, Secher NJ, Tabor A, Weber T, Walker JJ, Gluud C. Randomised clinical trials of fish oil supplementation in high-risk pregnancies. Fish Oil Trials in pregnancy (FOTIP). *BJOG: British Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2000; 107:382–95.
24. Malachias et al. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. Sociedade Brasileira de Cardiologia • ISSN-0066-782X • 2016; 107(3):3-104.
25. Pulido EEC, Benavides LG, Barón JGP, Gonzalez SP, Saray AJM, Padilla FEG, et al. Efficacy of L-arginine for preventing preeclampsia in high-risk pregnancies: A double-blind, randomized, clinical trial. *Hypertension in Pregnancy*. 2016; 35:217- 25.
26. Cardoso PM, Surve S. The Effect of Vitamin E and Vitamin C on the Prevention of Preeclampsia and Newborn Outcome: A Case–Control Study. *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India*. 2016; 66:271- 8.
27. Kiondo P, Wamuyu-Maina G, Wandabwa J, Bimenya GS, Tumwesigye NM, Okon P. The effects of vitamin C supplementation on pre-eclampsia in Mulago Hospital, Kampala, Uganda: a randomized placebo controlled clinical trial. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2014; 14(283):1-10.
28. Alami- Harandi R, Karamali M, Asemi Z. The favorable effects of garlic intake on metabolic profiles, hs-CRP, biomarkers of oxidative stress and pregnancy outcomes in pregnant women at risk for pre-eclampsia: randomized, double-blind, placebo controlled trial. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2014; 1- 28.
29. Antartani R, Ashok K. Effect of lycopene in prevention of preeclampsia in high risk pregnant women. *Journal of the Turkish-German Gynecology Association*. 2011; 12:35-8.
30. Kalpedev A, Saha SC, Dhawan V. Vitamin C and E supplementation does not reduce the risk of superimposed PE in pregnancy. *Hypertension in Pregnancy*. 2011; 30:447–56.
31. Tara F, Maamouri G, Rayman MP, Ghayour-Mobarhan M, Sahebkar A, Yazarlou O, et al. Selenium supplementation and the incidence of preeclampsia in pregnant Iranian women: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2010; 49:181-7.
32. Roberts JM, Myatt L, Spong CY, Thom EA, Hauth JC , Leveno KJ, et al. Vitamins C and E to prevent complications of pregnancy-associated hypertension. *The New England Journal of Medicine*. 2010; 362:1282-91.
33. McCance DR, Holmes VA, Maresh MJ, Patterson CC, Young IS. Diabetes and Pre-eclampsia Intervention Trial (DAPIT) Study Group, Vitamins C and E for

- prevention of pre-eclampsia in women with type 1 diabetes (DAPIT): a randomized placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2010; 376:259-66.
34. Xu H, Perez- Cuevas R, Xiong X, Reyes H, Roy C, Julien P, et al. An international trial of antioxidants in the prevention of preeclampsia (INTAPP). *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 2010; 239:e1- e10.
 35. Banerjee s, Jeyaseelan S, Guleria R. Trial of lycopene to prevent pre-eclampsia in healthy primigravidas: results show some adverse effects. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2009; 35:477-82.
 36. Teran E, Hernandez I, Nieto B, Tavera R, Ocampo JE, Calle A. Coenzyme Q10 supplementation during pregnancy reduces the risk of pre-eclampsia. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. 2009; 105:43–5.
 37. Villar J, Purwar M, Merialdi M, Zavaleta N, Thi Nhu Ngoc N, Anthony J, et al. World Health Organisation multicenter randomised trial of supplementation with vitamins C and E among pregnant women at high risk for pre-eclampsia in populations of low nutritional status from developing countries. *BJOG An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2009; 116:780-8.
 38. Spinnato JA, Freire S, Pinto ESJL, Cunha RMV, Martins-Costa S, Koch MA, et al. Antioxidant therapy to prevent preeclampsia: a randomized controlled trial. *Obstetrics and Gynecology*. 2007; 110:1311-8.
 39. Rumbold AR, Crowther CA, Haslam RR, Dekker GA, Robinson JS. Vitamins C and E and the risks of preeclampsia and perinatal complications. *The New England Journal of Medicine*. 2006; 354:1796-806.
 40. Poston L, Briley AL, Seed PT, Kelly FJ, Shennan AH. Vitamin C and vitamin E in pregnant women at risk for pre-eclampsia (VIP trial): randomised placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2006; 367:1145-54.
 41. Beazley D, Ahokas R, Livingston J. Vitamin C and E supplementation in women at high risk for preeclampsia: A double-blind, placebo-controlled trial. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2005; 192:520–1.
 42. Sharma JB, Kumar A, Kumar A, Malhotra M, Arora R, Prasad S. Effect of lycopene on pre-eclampsia and intra-uterine growth retardation in primigravidas, *International Journal of Gynaecology and Obstetrics*. 2003; 81:257-62.
 43. Chappell LC, Seed PT, Briley AL, Kelly FJ, Lee R, Hunt BJ, et al. Effect of antioxidants on the occurrence of pre-eclampsia in women at increased risk: a randomised trial. *The Lancet*. 1999; 354:810-6.
 44. Mujawar JR, Patel SS. Circulating biomarkers of oxidative stress in preeclampsia and efficacy of antioxidant Vitamin C supplementation. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2016; 7(1):1498- 1506.

45. Motawei SM, Attalla SM, Gouda HE, Harouny MA, Elmansoury AM. The effects of N-acetyl cysteine on oxidative stress among patients with pre-eclampsia. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. 2016; 135:226-7.
46. Wangkheimayum S, Kumar S, Suri V. Effect of Vitamin E on sP-Selectin Levels in Pre-Eclampsia. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2011; 26:169–71.
47. Valdivia-Silva JE, López-Molina K, Macedo R. Efecto de la terapia temprana con L-arginina em el crecimiento intrauterino restringido en la preclampsia. Estudio aleatorizado em mujeres latino-americanas. *Progressos de Obstetricia y Ginecologia*. 2009; 52:89-98.
48. Suhail M, Suhail MF, Khan H. Role of vitamins C and E in regulationg antioxidant and pro- oxidant markers in Preeclampsia. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 2008; 43:210-20.
49. Roes EM, Raijmakers MT, Boo TM, Zusterzeel PL, Merkus HM, Peters WH, et al. Oral N-acetylcysteine administration does not stabilise the process of established severe preeclampsia. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2006; 127:61-7.
50. Hladunewich MA, Derby GC, Lafayette RA. Effect of L-Arginine Therapy on the Glomerular Injury of Preeclampsia A Randomized Controlled Trial. *American Collgege of Obstetricioans and Gynecologists*. 2011; 107:886-95.
51. Rytlewsky K, Olszanecki R, Lauterbach R, Grzyb A, Basta A. Effects of Oral L-Arginine on the Foetal Condition and Neonatal Outcome in Preeclampsia: A Preliminary Report. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 2006; 99:146–52.
52. Gulmezoglu AM, Hofmeyr GJ, Oosthuisen MM. Antioxidants in the treatment of severe pre-eclampsia: an explanatory randomised controlled trial. *British journal of obstetrics and gynaecology*. 1997; 104:689-96.
53. Combs GF, McClung JP. Chapter 8: Vitamin E. *The Vitamins (Fifht Edittion)* 2017; 207-42.
54. Galli F, Azzi A, Birring M, Cook-Mills JM, Eggerdorfer M, Frank J, et al. Vitamin E: emerging aspects and new directions. *Free Radical Biological and Medicine* 2017; 102:16-36.
55. Singh P, Kesharwani RK, Keservani RK. Antioxidants and vitamins: Roles in cellular function and metabolismo. *Sustained Energy for Enhanced Human Functions and activity*. 2017; 385-407.

56. Combs GF, McClung JP. Chapter 10: Vitamin C. The Vitamins (Fifth editions) 2017; 267-95.
57. Ribeiro D, Freitas M, Silva MAS, Carvalho F, Fernandes E. Antioxidant and pro-oxidant activities of carotenoids and their oxidation products. Food and Chemical Toxicology. 2018; 120:681-99.
58. Eggersdorfer M, Wyss A. Carotenoids in human nutrition and health. Archives of Biochemistry and Biophysics 2018; 652 (15): 18-26.
59. Tellone E, Galtieri A, Russo A, Barreca D, Ficarra S. Chapter 2.13: Resveratrol. Nonvitamin and nonmineral nutritional supplements. 2009; 107-10.
60. Paschalis V, Theodorou AA, Margaritelis NV, Kyparos A, Nikolaidis MG. N-acetylcysteine supplementation increases exercise performance and reduces oxidative stress only in individuals with low levels of glutathione. Free Radical Biology and Medicine. 2018; 115(1):288-97.
61. Gad MZ. Anti-aging effects of L-arginine. Journal of Advanced Research. 2010; 1(3):169-77.
62. Chiarla C, Giovannini I, Siegel JH. Plasma arginina and correlations in trauma and sepsis. Amino Acids. 2006; 30(1):81-6.
63. Teixeira SAM. A importância do óxido nítrico na fisiopatologia da pré-eclâmpsia. Femina. 2006; 34(8):565-70.
64. Cominetti C, Cozzolino SMF. Funções plenamente reconhecidas de nutrientes: Selênio. 2009; 8:1-20.
65. Yubero-Serrano EM, Garcia-Rios A, Delgado-Lista J, Pérez-Martinez P, Miranda JL. Chapter 11: Coenzyme Q10 as an antioxidant in the elderly. Oxidative stress and dietary antioxidants. 2014; 109-17.
66. Miron T, Rabinkov A, Mirelman D, Wilchek M, Weiner L. The mode of action of allicin: its ready permeability through phospholipid membranes may contribute to its biological activity. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes. 2000; 1463(1):20-30.
67. Almeida A, Suyenaga ES, Sayuri E. Ação farmacológica do alho (*Allium sativum* L.) e da cebola (*Allium cepa* L.) sobre o sistema cardiovascular: revisão. Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr. 2009; 34(1):185-97.
68. Apolinário AC, Monteiro MM, Pachú CO, Dantas IC. *Allium sativum* L. como agente terapêutico para diversas patologias: uma revisão. Biofar, Revista de Biologia e Farmácia. 2008; 3(1).
69. Readman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. Science. 2005; 308(5728):1592-4.

70. Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1999; 180:499-506.
71. Saito S, Sakai M, Sasaki Y, Nakashima A, Shiozaki A. Inadequate tolerance induction may induce pre-eclampsia. *J Reprod Immunol.* 2007; 76(1-2):30-9.
72. Szarka A, Rigo J Jr, Lazar L, Beko G, Molvarec A. Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. *BMC Immunol.* 2010; 11:59.
73. Sargent IL, Germain SF, Sacks GP. Trophoblast deportation and the maternal inflammatory response in preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2003; 59(2):153-60.
74. Germain SJ, Sacks GP, Sooranna SR, Sargent IL, Redman CW. Systemic inflammatory priming in normal pregnancy and preeclampsia: the role of circulating syncytiotrophoblast microparticles. *J Immunol.* 2007; 178(9):5949-56.
75. Bernardi FCP, Felisberto F, Vuolo F, Petronilho F, Souza DR, Luciano TF, et al. Oxidative Damage, Inflammation, and Toll-Like Receptor 4 Pathway Are Increased in Preeclamptic Patients: A Case-Control Study. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2012; 2012:1-6.
76. Matsubara K, Matsubara Y, Hyodo S, Katayama T, Ito M. Role of nitric oxide and reactive oxygen species in the pathogenesis of preeclampsia. *The journal of obstetrics and gynaecology research.* 2010; 36(2):239-47.
77. Perucci LO, Corrêa MD, Dusse LM, Gomes KB, Sousa LP. Resolution of inflammation pathways in preeclampsia—a narrative review. *Immunol Res.* 2017; 65(4):774-89.
78. Ramma W; Ahmed A. Is inflammation the cause of pre-eclampsia? *Biochem. Soc. Trans.* 2011; 39:1619–27.
79. Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL, Mostofsky DI. The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiol Aging.* 2002; 23(5):843-53.
80. Mahan LK, Escott-Stup S, Raymond JL. Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia. 12ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2013.

81. Calder PC. The role of marine omega-3 (n-3) fatty acids in inflammatory processes, atherosclerosis and plaque stability. *Mol Nutr Food Res.* 2012; 56:1073–80.
82. Dziechciarz P, Horvath A, Szajewska H. Effects of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation during pregnancy and/or lactation on neurodevelopment and visual function in children: a systematic review of randomized controlled trials. *J Am Coll Nutr.* 2010; 29(5):443–54.
83. Zhou SJ, Yelland L, McPhee AJ, Quinlivan J, Gibson RA, Makrides M. Fish-oil supplementation in pregnancy does not reduce the risk of gestational diabetes or preeclampsia. *Am J Clin Nutr.* 2012; 95(6):1378–84.
84. Williams MA, Zingheim RW, King IB, Zebelman AM. Omega-3 fatty acids in maternal erythrocytes and risk of preeclampsia. *Epidemiology.* 1995; 6:232–7.
85. Velzing-Aarts FV, van der Klis FR, van der Dijs FP, Muskiet FA. Umbilical vessels of preeclamptic women have low contents of both n-3 and n-6 long-chain polyunsaturated fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.* 1999; 69:293–8.
86. Szajewska H, Horvath A, Koletzko B. Effect of n23 long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation of women with low-risk pregnancies on pregnancy outcomes and growth measures at birth a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2006; 83:1337–44.
87. Chen B, Ji X, Zhang L, Hou Z, Li C, Tong Y. Fish Oil Supplementation does not Reduce Risks of Gestational Diabetes Mellitus, Pregnancy-Induced Hypertension, or Pre-Eclampsia: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Med. Sci. Monit.* 2015; 21:2322–30.
88. Kilari AS, Mehendale SS, Dangat KD, Yadav HR, Kulakarni AV, Dhobale MV, et al. Long chain polyunsaturated fatty acids in mothers and term babies. *J. Perinat. Med.* 2009; 37:513–8.
89. Kilari A, Dangat K, Taralekar V, Mahadik S, Joshi S. Fatty acids, antioxidants, and oxidative stress in pre-eclampsia. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2008; 100:234–8.
90. Burchakov DI, Kuznetsova IV, Uspenskaya YB. Omega-3 Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids and Preeclampsia: Trials Say “No,” but Is It the Final Word? *Nutrients.* 2017; 9(1364):1-13.
91. Phang M, Skilton MR. Marine Omega-3 Fatty Acids, Complications of Pregnancy and Maternal Risk Factors for Offspring Cardio-Metabolic Disease. *Mar. Drugs.* 2018; 16(138):1-12.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo identificou um aumento dos níveis de catalase, superóxido dismutase, razão glutaciona reduzida/glutaciona oxidada e interleucina 6 e uma diminuição da glutaciona oxidada nas placentas de gestantes com PE, quando comparados as controles. O aumento das enzimas antioxidantes na placenta de gestantes com PE pode ser atribuído ao mecanismo compensatório frente ao aumento de espécies reativas de oxigênio circulantes, na tentativa de combater tais espécies danosas. Além disso, a glutaciona reduzida mostrou exercer influência sobre os resultados perinatais, tais como peso ao nascer, perímetro torácico e idade gestacional ao nascimento.

Neste caso, tais dados podem fortalecer as pesquisas relacionadas ao esclarecimento da patogênese e fisiopatologia da PE, bem como o possível envolvimento da placenta nesses aspectos. O desequilíbrio redox e os marcadores inflamatórios podem ser ferramentas eficazes para o diagnóstico precoce e o prognóstico das gestações afetadas pela doença. Juntos, esses achados suportam a hipótese de que na placenta de gestantes com PE há um desequilíbrio redox e um processo inflamatório, sugerindo possível papel da suplementação de antioxidantes e anti-inflamatórios na prevenção e/ou tratamento da PE.

Por fim, pesquisas futuras são imperativas para investigar um espectro mais amplo de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, além de inflamação nas placentas de gestantes com PE, além da relação destes com os resultados perinatais, já que a literatura carece de estudos com o propósito de fortalecer as evidências científicas dessas associações, tendo em vista o desenvolvimento de programas de saúde pública voltadas para este grupo, a fim de diminuir a mortalidade materna e infantil, bem como reduzir o risco das repercussões no pós parto, como por exemplo, a doença renal.

REFERÊNCIAS

- ABALOS, E. et al. Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: a systematic review. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 170, n.1, p. 1-7, 2013.
- ACHAMRAH, N.; DITISHEIM, A. Nutritional approach to preeclampsia prevention. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**. v. 21, n.3, p.168-173, 2018.
- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods Enzymol**. v.105, p.121-6, 1984.
- AGGARWAL, R. et al. Association of pro- and anti-inflammatory cytokines in preeclampsia. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 33, n. 4, p. e22834, 2019.
- AHMADIAN, E.; RAHBAR, S.Y.; MAHDI, H.K.S.; ZIBA, N.; MILAD, B.; FATEMEH Z.V.; MOHAMMADREZA, A. et al. Pre-Eclampsia: microbiota possibly playing a role. **Pharmacological Research**. v.15,n.5, p.1046-92, 2020.
- AKHLAQ, M.; NAGI, A.H.; YOUSAF, A.W. Placental morphology in pre-eclampsia and eclampsia and the likely role of NK cells. **Indian Journal of Pathology and Microbiology**, v. 55, n. 1, p. 17-21, 2012.
- AL-KURAI SHY, H.M.; AL-GAREEB, A.I.; AL-MAIAHY, T.J. Concept and connotation of oxidative stress in preeclampsia. **Journal of Laboratory Physicians**, v. 10, p. 276-82, 2018.
- ALANBAY, I. et al. Chitotriosidase, interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha levels in mild preeclampsia. **Arch Gynecol Obstet**. v.285, n.6, p.1505-11, 2012.
- ALENCAR, A. P. Perfil **inflamatório em gestações com distúrbios hiperglicêmicos: Enfoque na análise das vilosidades coriônicas**. 2015. Dissertação 98 f. (Mestrado em Biologia Celular e Tecidual) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.
- AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, COMMITTEE ON FETUS AND NEWBORN; American College of Obstetricians and Gynecologists and Committee on Obstetric Practice. The Apgar Score. **Pediatrics**. v.117, n.4, p. 1444-7, 2006.
- AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS. **Task Force on Hypertension in Pregnancy**. ACOG Hypertension in Pregnancy Task

Force. Washington, DC: American College of Obstetricians and Gynecologists, p. 1-100, 2013.

AOUACHE, R. et al. Oxidative stress in preeclampsia and placental diseases. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 5, p. 1496, 2018.

ARIKAN, C, D.; ARA, L M.; COSKUN, A.; OZER, A. Plasma IL-4, IL-8, IL-12, interferon- γ and CRP levels in pregnant women with preeclampsia, and their relation with severity of disease and fetal birth weight. **J Matern Fetal Neonatal Med**. v.25, n.9, p.1569-73, 2012.

ARRIAGA-PIZANO, L.; JIMENEZ-ZAMUDIO, L.; VADILLO-ORTEGA, F.; MARTINEZ-FLORES, A.; HERRERIAS-CANEDO, T.; HERNANDEZ-GUERRERO C. The predominant Th1 cytokine profile in maternal plasma of preeclamptic women is not reflected in the choriodecidual and fetal compartments. **J Soc Gynecol Investig**. v.12, n.5, p.335-42, 2005.

ARTUNC-ULKUMEN, B. et al. Maternal Serum S100-B, PAPP-A and IL-8 levels in severe Preeclampsia. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 292, p. 97-102, 2015.

ATALAH, S.E.; CASTILLO, L.C.; CASTRO, S.R.; ALDEA, A. Propuesta de un nuevo estándar de evaluación nutricional en embarazadas. **Rev Med Chil**.v.125, n.12, p.1429-36, 1997.

BACHHAWAT, A.K.;YADAV,S.The glutathione cycle: Glutathione metabolism beyond the γ -glutamyl cycle. **International Union of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 70, n. 7, p. 585-592, 2018.

BAKHEIT, K.H., et al. Cytokines profiles in Sudanese women with preeclampsia. **Hypertens Pregnancy**. v.28, n.2, p.224-9. 2009.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Oxidative stress: relationship between generation of reactive species and defense of the organism. **Química Nova**, v. 29, p. 113-123, 2006.

BARTSCH E, MEDCALF KE, PARK AL, RAY JG. Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: Systematic review and meta-analysis of large cohort studies. **BMJ**. v.353, p.1753, 2016.

BASAR, M. et al. Preeclampsia-related increase of interleukin-11 expression in human decidual cells. **Reproduction**. v. 140, n.4, p. 605-612. 2010.

BASHIR, S.O. et al. Impact of High Altitude on Maternal Serum Leptin Level and its Correlation With Oxidative Stress and Endothelial Inflammatory Markers in Preeclamptic Women. **Chinese Journal of Physiology**, v. 61, n. 1, p. 50-56, 2018.

BASHIR, S.O. et al. The effect of high altitude on endothelial and vascular dysfunction markers in preeclamptic patients. **Acta Physiologica Hungarica**, v.102, n. 4, p. 391-399, 2015.

BELAY, A.S.; WUDAD, T. Prevalence and associated factors of pre-eclampsia among pregnant women attending anti-natal care at Mettu Karl referral hospital, Ethiopia: cross-sectional study. **Clin Hypertens**.v.25, p.14.2019.

BELLOS, I.; DASKALAKIS, G.; PERGIALIOTIS, V. Helicobacter Pylori Infection Increases the Risk of Developing Preeclampsia: A Meta-Analysis of Observational Studies. **Int. J. Clin. Pract.**, v.72,p. 349–353, 2018.

BELOUSOVA, V.S.; SVITICH, O.A.; TIMOKHINA, E.V.; STRIZHAKOV, A.N.; BOGOMAZOVA, I.M. Polymorphism of the IL-1 β , TNF, IL-1RA and IL-4 Cytokine Genes Significantly Increases the Risk of Preterm Birth. **Biochemistry (Mosc)**. v.84, n.9, p. 1040-50, 2019.

BEN, A.G.M.; ZITOUNI, H.; RAGUEMA, N.; MALEH, W.; GRIS J.C.; ALMAWI, W.; MAHJOUR, T. Association of common_eNOS/NOS3 polymorphisms with_preeclampsia_in Tunisian Arabs. **Genes**. v.569, n.2, p.303-7, 2015.

BENEVENTI, F. et al. Maternal and fetal Leptin and interleukin 33 concentrations in pregnancy complicated by obesity and preeclampsia, **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**. 2019.

BENIRSCHKE, K. Examination of the placenta. **Obstetrics & Gynecology**, v. 18, n. 3, p. 309-333, 1961.

BENIRSCHKE, K.; BURTON, G.J.; BAERGEN, R.N. Pathology of the Human Placenta. Editora: Springer. 2012

BERNARDI, F.C.B. et al. Oxidative damage, inflammation, and toll-like receptor 4 pathway are increased in preeclamptic patients: a case-control study. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 20, 2012.

BERNARDI, F. et al. Oxidative stress and inflammatory markers in normal pregnancy and preeclampsia.**Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 34, n. 6, p. 948-951, 2008.

BHARADWAJ, S.K. et al. Oxidative stress, antioxidant status and neurodevelopmental outcome in neonates born to pre-eclamptic mothers. **Indian Journal of Pediatrics**, v. 85, p. 351-357, 2018.

BORZYCHOWSKI, A.M.; SARGENT, I.L.; REDMAN, C.W. Inflammation and pre-eclampsia. **Seminars in Fetal and Neonatal Medicine**, v. 11, n. 5, p. 309-316, 2006.

BOUÇAS, A. P. et al. Role of innate immunity in preeclampsia: A systematic review. **Reproductive Sciences**, v.24, n.10, p. 1362–1370, 2017.

BOWEN, J.M. et al. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: roles and regulation during human pregnancy and parturition. **Placenta**, v. 23, n. 4, p. 257-273, 2002.

BRADFORD, M. M. “A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding,” **Analytical Biochemistry**, v. 72, no 1-2, p. 248–254, 1976.

BRADLEY, P.P R. D. Christensen, and G. Rothstein, “Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation,” **Blood**, v. 60, n. 3, p. 618–622, 1982.

BRANTSÆTER, A.L.; MYHRE, R.; HAUGE, N. M. et al. Intake of probiotic food and risk of preeclampsia in primiparous women: the Norwegian Mother and Child Cohort Study. **Am J Epidemiol**, v.174, n.7, p.807-815, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. DATASUS - Departamento de Informática do SUS. **Sistema de Informações de Mortalidade (SIM)**. Disponível em: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=060701>. Acesso em: 30.08.2019.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Vigilância alimentar e nutricional - Sisvan: orientações básicas para a coleta, processamento, análise de dados e informação em serviços de saúde Brasília. MS; 2004.

BROSENS, I. et al. The “Great Obstetrical Syndromes” are associated with disorders of deep placentation. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 204, n. 3, p. 193-201, 2011.

BROWN, M. A., et al. Hypertensive Disorders of Pregnancy. **Hypertension**, v.72, n.1, p. 24–43, 2018.

BRYANT, A.H.; SPENCER-HARTY, S.; OWENS, S.; JONES, R.H.; THORNTON, C.A. Interleukin 4 and interleukin 13 downregulate the lipopolysaccharide-

mediated inflammatory response by human gestation-associated tissues. **Biology of Reproduction**, v.96, n.3, p. 576–586, 2017

BURCHAKOV, D.I.; KUZNETSOVA, I.V.; USPENSKAYA, Y.B. Omega-3 Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids and Preeclampsia: Trials Say "No," but Is It the Final Word? **Nutrients**. v.15, n.9, p.12, 2017

BURTON, G.J. et al. Placental endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathophysiology of unexplained intrauterine growth restriction and early onset preeclampsia. **Placenta**, v. 30, p. 43-48, 2009.

BURTON, G.J. et al. Pre-eclampsia: pathophysiology and clinical implications, **BMJ- British Medical Journal**, v. 366, n. l2381, p. 1-15, 2019.

BURTON, G.J.; JAUNIAUX, E. Oxidative stress. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, v.25, n. 3, p. 287–299, 2011.

BUSINGE, C.B., et al. Insufficient iodine nutrition status and the risk of pre-eclampsia: a protocol for systematic review and meta-analysis. **BMJ Open**.v.9, n.5,p.55-73. 2019.

CACKOVIC, M. et al. Fractional excretion of tumor necrosis factor-alpha in women with severe preeclampsia. **Obstetrics and Gynecology**, v. 112, n. 1, p. 93-100, 2008.

CARSWELL, E.A. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 72, p. 3666–3670, 1975.

CASART, Y.C.; TARRAZZI, K.; CAMEJO, M.I. Serum levels of interleukin-6, interleukin-1beta and human chorionic gonadotropin in pre-eclamptic and normal pregnancy. **Gynecol Endocrinol**. v.23, n.5, p.300-3. 2007.

CATARINO, C. et al. Inflammatory disturbances in preeclampsia: relationship between maternal and umbilical cord blood. **Journal of Pregnancy**, v. 2012, p. 1-10, 2012.

CERDEIRA, A.S.; AGRAWAL, S.; STAFF, A.C.; REDMAN, C.W.; VATISH, M. Angiogenic factors: potential to change clinical practice in pre-eclampsia? **BJOG**., v.125, n.11, p. 1389–1395, 2018.

CHATTERJEE, P. et al. Regulation of the Anti-Inflammatory Cytokines Interleukin-4 and Interleukin-10 during Pregnancy. **Frontiers in Immunology**, v. 5, p. 259-3, 2014.

CHAIWORAPONGSA, T. et al. Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology. **Nature Reviews Nephrology**, v. 10, n. 8, p. 466, 2014.

CHANDRA, S. et al. Physiological changes in hematological parameters during pregnancy. **Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion**, v. 28, n. 3, p. 144–146, 2012.

CHEN, H.; XIAOBO ZHOU, T. H.; PHILIP, N. B.; HONGBO, Q.I.; HUA, Z. Decreased IL-33 Production Contributes to Trophoblast Cell Dysfunction in Pregnancies with Preeclampsia. **Mediators of Inflammation**. v., 78, p.11. 2018

CHEN, D. et al. Hypertensive disorders of pregnancy associated with adverse pregnant outcomes in patients with systemic lupus erythematosus: a multicenter retrospective study. **Clinical Rheumatology**, p. 1-9, 2019.

CHEN, C.Y.; CHEN, C.P.; LIN, K.H. Biological functions of thyroid hormone in placenta. **Int J Mol Sci**, v.16, p.4161–79. 2015.

CHEN, H.J.; GUR T.L. Intrauterine Microbiota: Missing, or the Missing Link? **Trends Neurosci** v.42, p. 402-413. 2019.

CHENG, S.B. et al. Interleukin-10: a pleiotropic regulator in pregnancy. **American journal of reproductive immunology**, v. 73, n. 6, p. 487-500, 2015.

CHENG, W.; ZHAO, Y., WANG, S.; JIANG, F. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in vascular inflammation and atherosclerosis: a protector or culprit? **Vascul Pharmacol**, v.63, n.3, p.135-44. 2014.

CHIARELLO, D.I. et al. Oxidative stress: Normal pregnancy versus preeclampsia. **Molecular Basis of Disease**, 2018; *in press*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.12.005>.

CINDROVA-DAVIES, T. Gabor Than Award Lecture 2008: Pre-eclampsia – From Placental Oxidative Stress to Maternal Endothelial Dysfunction. **Placenta**. v. 23, p.S55–S65, 2009.

CONDE-AGUDELO, A.; ROSAS-BERMUDEZ A, KAFURY-GOETA AC. Effects of birth spacing on maternal health: A systematic review. **Am J Obstet Gynecol**.v.196, p.297–308. 2007.

COUTO, N.; WOOD, J.; BARBER, J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. **Free Radical Biology and medicine**, v. 95, p. 27-42, 2016.

CONFEDERAÇÃO NACIONAL DE MUNICÍPIOS – CNM. **Guia para Localização dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável nos Municípios Brasileiros.**

O que os gestores municipais precisam saber – Brasília: CNM, 2016. 132 p.

CORRÊA, R. R. M. et al. Placental morphometrical and histopathology changes in the different clinical presentations of Hypertensive Syndromes in Pregnancy. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 277, p. 201-6, 2008.

CORREA, P.J. et al. Etiopathogenesis, prediction, and prevention of preeclampsia. **Hypertens Pregnancy**. v. 35, n.3, p.280-94. 2016.

COSTA e SILVA, D.M. et al. Oxidative stress and immunological alteration in women with preeclampsia. **Hypertens Pregnancy**, v.32, n.3,p. 304–311. 2013.

CRUZ, A. F. N. et al. Morbidade materna pela doença hipertensiva específica da gestação: estudo descritivo com abordagem quantitativa. Journal of Research: **Fundamental Care Online**. v. 8, n. 7, p. 4290-4299, 2016.

CRUZ, M. O.; GAO, W.; HIBBARD, J.U. Obstetrical and perinatal outcomes among women with gestational hypertension, mild preeclampsia, and mild chronic hypertension. **Obstet Gynecol**.v. 205, n. 3, p.260. 2011

CUI L, et al. The expression of serum sEGFR, sFlt-1, sEndoglin and PLGF in preeclampsia. **Pregnancy Hypertens**, v. 13, p. 27-132, 2018.

DA COSTA SILVA, D.; CERCHIARO, G.; HONÓRIO, K.M. Relações patofisiológicas entre estresse oxidativo e arteriosclerose. **Quim. Nova**, v. 34, n. 2, p. 300-305, 2011.

DANEVA, A.M.; HADŽI-LEGA, M.; STEFANOVIC, M. Correlation of the system of cytokines in moderate and severe preeclampsia. **Clin Exp Obstet Gynecol**.v.43, n.2, p.220-4, 2016.

DAY, M.C. et al. The effect of fetal number on the development of hypertensive conditions of pregnancy. **Obstetrics & Gynecology**, v. 106, n. 5, p. 927-931, 2005.

DE LUCCA, L. et al. Delta-aminolevulinate dehydratase activity and oxidative stress markers in preeclampsia. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 84, p. 224-229, 2016.

DOCKERY, P.; BERMINGHAM, J.; JENKINS, D. Structure—function relations in the human placenta. **Biochemical Society Transactions**, v. 28, n. 2, p. 202-208, 2000.

DONG, W.; YIN, L. Expression of lipoxin A4, TNF α and IL-1 β in maternal peripheral blood, umbilical cord blood and placenta, and their significance in pre-eclampsia. **Hypertens Pregnancy**. v.33, n.4, p.449-56. 2014.

D'SOUZA, V. et al. Increased oxidative stress from early pregnancy in women who develop preeclampsia. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 38, n. 2, p. 225-232, 2016.

DUCKITT, K.; HARRINGTON, D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. **British medical journal**, v. 330, n. 7491, p. 565, 2005.

DUKLER, D. et al. Remote prognosis of primiparous women with preeclampsia. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 96, n. 1, p. 69-74, 2001.

DULEY, L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. **Seminars in perinatology**, v. 33, n.3, p. 130-137, 2009.

DUNN, A.B.; HANSON, L.; VANDEVUSSE, L. Through the Microbial Looking Glass: Premature Labor, Preeclampsia, and Gestational Diabetes: A Scoping Review. **J Perinat Neonatal Nurs**. v.33, p.35-51, 2019.

EKINCI, A. et al. Expresión de Endotelina-1 y Ki-67 en Placentas Normotensas y Preeclampsia Severa. **International Journal of Morphology**, v. 36, n. 1, p. 109-112, 2018.

EKUN, O.A. et al. Biochemical Assessment of Renal and Liver Function among Preeclamptics in Lagos Metropolis, **International Journal of Reproductive Medicine**, v. 2018, p. 1-6, 2018.

EKUN, O.A. et al. Interrelationship Between Markers of Oxidative Stress, Inflammation and Hematological Parameters Among Preeclamptic Nigerian Women. **Med Sci Monit Basic Res**, v.24, p.225–231,2018.

ELLIS, J.et al. Levels of dimethylarginines and cytokines in mild and severe preeclampsia. **Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica**, v. 80, n. 7, p. 602-608, 2001.

ENGELAND, A.; BJORGE, T.; DALTVEIT, A.K.; et al. Risk of diabetes after gestational diabetes and preeclampsia. A registry-based study of 230,000 women in Norway. **Eur J Epidemiol**.v.26, p.157–163, 2011.

FALCO, M.L. et al. Placental histopathology associated with pre-eclampsia: systematic review and meta-analysis. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, v. 50, n. 3, p. 295-301, 2017.

FENG, Y. et al. Alpha-1 antitrypsin prevents the development of preeclampsia through suppression of oxidative stress. **Frontiers in physiology**, v. 7, p. 176, 2016.

FIELDS, J.K; GÜNTHER, S.; SUNDBERG, E.J. Structural Basis of IL-1 Family Cytokine Signaling. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 1412, 2019.

FITZGERALD, J.S. et al. Governing the invasive trophoblast: current aspects on intra-and extracellular regulation. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 63, n. 6, p. 492-505, 2010.

FISHER, S.J. Why is placentation abnormal in preeclampsia? **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 213, n. 4, p. S115-S122, 2015.

FORMAN, H.J.; ZHANG, H.; RINNA, A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 30, p. 1–12, 2009.

FOX R., et al. Preeclampsia: Risk Factors, Diagnosis, Management, and the Cardiovascular Impact on the Offspring. **J Clin Med**. v.4, n.8, p.10,2019.

FOUND, S.A. et al. A Comparison of Circulating TNF- α in Obese and Lean Women with and without Preeclampsia. **Hypertension in pregnancy**, v. 27, n. 1, p. 39-48, 2008.

FREDERICK, I.O. et al. Dietary fiber, potassium, magnesium and calcium in relation to the risk of preeclampsia. **J Reprod Med**. v.50, n.5, p.332-44. 2005.

GANDLEY, R.E. et al. Increased myeloperoxidase in the placenta and circulation of women with preeclampsia. **Hypertension**, v.52, n.2, p.387-93. 2008

GAIO, D.S. et al. Hypertensive disorders in pregnancy: frequency and associated factors in a cohort of Brazilian women. **Hypertension in pregnancy**, v. 20, n. 3, p. 269-81, 2001.

GARNER, P.R. et al. Preeclampsia in diabetic pregnancies. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 163, n. 2, p. 505-508, 1990.

GIANNAKOU, K.; EVANGELOU, E.; PAPTAEODOROU, S.I. Genetic and non-genetic risk factors for pre-eclampsia: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, v. 51, n. 6, p. 720-730, 2018.

GIL-VILLA, A.M.; ALVAREZ, A.M.; VELÁSQUEZ-BERRÍO, M.; ROJAS-LÓPEZ, M.; CADAVID, J.A.P. Role of aspirin-triggered lipoxin A4, aspirin, and salicylic acid in the modulation of the oxidative and inflammatory responses induced by plasma from women with pre-eclampsia. **Am J Reprod Immunol.** v.83, n.2, p.e13207.2020.

GOKDEMIR, I.E.; OZDEGIRMENCIO, ELMAS B, SARIKAYA E, TOKMAK A, KAZANCI FH, et al. Evaluation of ADAMTS12, ADAMTS16, ADAMTS18 and IL-33 serum levels in pre-eclampsia. **J Matern Fetal Neonatal Med.** v.29, n. 15, p. 2451-6. 2016;

GIORDANO, J.C. et al. The burden of eclampsia: results from a multicenter study on surveillance of severe maternal morbidity in Brazil. **PLoS One**, v. 9, n. 5, p. e97401, 2014.

GONZÁLEZ, A. I. I. et al. Trastornos hipertensivos del embarazo: clínica y epidemiología, Hospital Regional Santa Teresa 2015. **Revista médica hondureña**, v. 84, n. 3-4, p. 101-106, 2016.

GRANNE, I.; SOUTHCOMBE, J.H.; SNIDER, J.V.; TANNETTA, D.S.; CHILD, T.; REDMAN, C.W. et al. ST2 and IL-33 in pregnancy and preeclampsia. **PloS One**; v.6, n.9, p.e24463. 2011.

GRAY, K.J. et al. Gene-Centric Analysis of Preeclampsia Identifies Maternal Association at *PLEKHG1*. **Hypertension**, v. 72, n. 2, p. 408-416, 2018.

GREGOR, M.F.; HOTAMISLIGIL, G.S. Inflammatory mechanisms in obesity. **Annu Rev Immunol.** v,29, p.415–445, 2011.

GRUM, T. et al. Determinants of pre-eclampsia/Eclampsia among women attending delivery Services in Selected Public Hospitals of Addis Ababa, Ethiopia: a case control study. **BMC Pregnancy Childbirth**, v. 17, n. 1, p. 1-7, 2017.

GUEDES-MARTINS, L. et al. AGEs, contributors to placental bed vascular changes leading to preeclampsia. **Free Radical Research**, v. 47, n. 1, p. 70-80, 2013.

GUIMARÃES, L. et al. Histopathological changes in human placentas related to hypertensive disorder. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 31, n. 1, p. 10-16, 2009.

HARMON, A.C. et al. The role of inflammation in the pathology of Preeclampsia. **Clinical Science**, v.130, p. 409–419, 2016.

HEAZELL, A.E. et al. Formation of syncytial knots is increased by hyperoxia, hypoxia and reactive oxygen species. **Placenta**, v. 28, p. 33-40, 2007.

HEEP, A.; BEHRENDT, D.; NITSCH, P. et al. Increased serum levels of interleukin 6 are associated with severe intraventricular haemorrhage in extremely premature infants,” **Archives of Disease in Childhood**, v. 88, n. 6, p. F501–F504, 2003.

HENNESSY, A. et al. A deficiency of placental IL-10 in preeclampsia. **Journal of Immunology**, v. 163, n. 6, p. 3491-3495, 1999.

HENNESSY, A. et al. Placental tissue interleukin-10 receptor distribution in preeclampsia. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 49, n. 6, p. 377-381, 2003.

HERNANDEZ-DIAZ, S.; TOH S, CNATTINGIUS S. Risk of pre-eclampsia in first and subsequent pregnancies: Prospective cohort study. **BMJ**. 338: b2255. 2009;

HERNANDEZ, I. et al. NADPH oxidase is the major source of placental superoxide in early pregnancy: association with MAPK pathway activation. **Scientific Reports**. n.9, p.13962.2019.

HERTELENDY, F.; MOLNAR, M.; ROMERO, R. Interferon γ antagonizes interleukin-1 β -induced cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production in human myometrial cells, **J. Soc. Gynecol. Investig.** n. 9, p. 215-219.2002.

HLADUNEWICH, M.A., et al.Effect of L-arginine therapy on the glomerular injury of preeclampsia: a randomized controlled trial. **Obstet Gynecol**,v.107, n.4, p.:886-95. 2006.

HO, E. et al. Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular. **Redox Biology**, v. 1, p. 83–491, 2013.

HOFFMAN, M. K. et al. A description of the methods of the aspirin supplementation for pregnancy indicated risk reduction in nulliparas (ASPIRIN) study. **BMC Pregnancy & Childbirth**, v. 17, n. 135, p. 1-15, 2017.

HOGAN, J.L. et al. Body mass index and hypertensive disorders of pregnancy. **Pregnancy Hypertension**, v. 2, n. 1, p. 28-31, 2012.

HOLZBERG, D. et al. Disruption of the c-JUN-JNK complex by a cell-permeable peptide containing the c-JUN delta domain induces apoptosis and affects a distinct set of interleukin-1-induced inflammatory genes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 41, p. 40213-40223, 2003.

HOWLADER, M.D.Z.H, et al. Oxidative Stress and Antioxidant Status in Neonates Born to Pre-eclamptic Mother. **Journal of Tropical Pediatrics**, v. 55, p. 363–367, 2009.

HSIEH, T.T. et al. The Association Between Maternal Oxidative Stress at Mid-Gestation and Subsequent Pregnancy Complications. **Reproductive Sciences**, v.19, n.5, p. 505-512, 2012.

HUBER, P.C.; ALMEIDA, W.P. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química nova**, v. 31, n. 5, p. 1170-1179, 2008.

HUNG, T.; BURTON, G.J. Hypoxia and reoxygenation: a possible mechanism for placental oxidative stress in preeclampsia. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 45, n. 3, p. 189-200, 2006.

HYBIAK, J.; BRONIAREK, I.; KIRYCZYŃSKI, G.; LOS, L.D. et al. Aspirin and its pleiotropic application. **Eur J Pharmacol**. v.5, n.866, p.1727-62, 2020.

Institute of Medicine (US) and National Research Council (US) Committee to Reexamine IOM Pregnancy Weight Guidelines; Rasmussen KM, Yaktine AL, editors. **Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines**. Washington (DC): National Academies Press (US); 2009.

JACINTO, S.O.S.; PAMPLONA, K. SOARES, M. **Manual Técnico de Gestão de Alto Risco** - 2012. [Internet]. Editora Ms. 2012. 302p.

JAMEIL, N. et al. A brief overview of preeclampsia. **Journal of clinical medicine research**, v. 6, n. 1, p. 1, 2014.

JAUNIAUX, E. et al. Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress. A possible factor in human early pregnancy failure. **American Journal of Pathology**, v. 157, p. 2111–2122, 2000.

JUAN-REYES, S. S.; GÓMEZ-OLIVÁN, L.M.; ISLAS-FLORES, H.; DUBLÁN-GARCÍA, O. Oxidative stress in pregnancy complicated by preeclampsia. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.68, n. 11, p. 25-55, 2020.

KALINDERIS, M., et al. Elevated serum levels of interleukin-6, interleukin-1 β and human chorionic gonadotropin in pre-eclampsia. **Am J Reprod Immunol**. V.66, n.6, p.468-75. 2011.

KARA, A.E. et al. The role of inflammatory markers hs-CRP, sialic acid and IL-6 in the pathogenesis of preeclampsia and intrauterine growth restriction. **European Cytokine Network**, v. 30, n. 1, p. 29-33, mar. 2019.

KARACAY, O. et al. A quantitative evaluation of total antioxidant status and oxidative stress markers in preeclampsia and gestational diabetic patients in 24-36 weeks of gestation. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 89, n. 3, p. 231-238, 2010.

KESHAVARZ, P. et al. Alterations in Lipid Profile, Zinc and Copper Levels and Superoxide Dismutase Activities in Normal Pregnancy and Preeclampsia. **American Journal of the Medical Sciences**, v. 353, n. 6, p. 552-558, 2017.

KHALIL, A.; SYNGELAKI, A.; MAIZ, N.; ZINEVICH, Y.; NICOLAIDES, K.H. Maternal age and adverse pregnancy outcome: A cohort study. **Ultrasound Obstet Gynecol.**v.42, p.634–643, 2013.

KHANABDALI, R.; SHAKOURI-MOTLAGH, A.; WILKINSON S. et al. Low-dose Aspirin Treatment Enhances the Adhesion of Preeclamptic Decidual Mesenchymal Stem/Stromal Cells and Reduces Their Production of Pro-Inflammatory Cytokines. **J Mol Med (Berl)**, v.96, n.11, p. 1215-1225, 2018.

KHATRI, M. Circulating biomarkers of oxidative stress in normal pregnancy and preeclampsia and efficacy of antioxidant supplementation. **International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology**, v.2, n.3, p.304-310, 2013.

KIKUCHI-UEDA, T. et al. TNF- α of mast cells induces pro-inflammatory responses during infection with *Acinetobacter baumannii*. **Immunobiology**, v. 222, n. 11, p. 1025-1034, 2017.

KIM, Y.H. et al. Total peroxy radical-trapping ability and anti-oxidant vitamins of the umbilical venous plasma and the placenta in pre-eclampsia. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 32, n. 1, p. 32-41, 2006.

KLEMMENSEN, A. et al. Intake of vitamin C and E in pregnancy and risk of pre-eclampsia: prospective study among 57 346 women. **BJOG**. v.116, n.7, p.964-74, 2009.

KOÇYIGIT, Y.; ATAMER, Y.; ATAMER, A.; TUZCU, A.; AKKUS, Z. Changes in serum levels of leptin, cytokines and lipoprotein in pre-eclamptic and normotensive pregnant women. **Gynecol Endocrinol.** v.19, n.5, p.267-73, 2004.

KOLUSARI, A. et al. Catalase activity, serum trace element and heavy metal concentrations, and vitamin A, D and E levels in pre-eclampsia. **Journal of International Medical Research**, v. 36, n. 6, p. 1335-1341, 2008.

KONWAR, C. et al. Association of a placental Interleukin-6 genetic variant (rs1800796) with DNA methylation, gene expression and risk of acute chorioamnionitis. **BMC medical genetics**. v. 20, n.1, p. 36, 2019.

KURLAK, L.O. et al. Oxidative stress markers in hypertensive states of pregnancy: preterm and term disease. **Frontiers in Physiology**, v. 5, p. 310, 2014.

LAMARCA, B. Endothelial dysfunction. An important mediator in the pathophysiology of hypertension during pre-eclampsia. **Minerva Ginecologica**, v. 64, n. 4, p. 309–320, 2012.

LAU, S.Y. et al. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, and interleukin-10 levels are altered in preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 70, n. 5, p. 412-427, 2013.

LASKOWSKA. M.; LASKOWSKA. K.; OLESZCZUK. J. The relation of maternal serum eNOS, NOSTRIN and ADMA levels with aetiopathogenesis of preeclampsia and/or intrauterine fetal growth restriction. **J Matern Fetal Neonatal Med**. v.28, n.1, p.26-32. 2015.

LIEW, F.Y.; GIRARD, J.P.; TURNQUIST, H.R. Interleukin-33 in health and disease,” **Nature Reviews Immunology**, v. 16, n. 11, p. 676–689, 2016.

LIN, Y. et al. A meta-analysis of tumor necrosis factor- α and FAS/FASL polymorphisms with risk of pre-eclampsia. **Hypertension in Pregnancy**, v. 38, n. 1, p. 20-31, 2019.

LING, H.Z.; GARCIA, J.P.; BISQUERA, A.; POON, L.C. Nicolaides KH1, Kametas NA1. Maternal cardiac function in women at high-risk for preeclampsia treated with 150mg Aspirin or placebo: an observational study. **BJOG**. v. 4. 2020.

LITTLE, B.D.; HOPKINS, R.Z. Superoxide Dismutases in Biology and Medicine: Essentials and Recent Advances. **Reactive Oxygen Species**, v.9, n. 25, p.13–21, 2020.

LIU, J.X. et al. Oxidative stress induced Gadd45 α inhibits trophoblast invasion and increases sFlt1/sEng secretions via p38 MAPK involving in the pathology of pre-eclampsia. **Matern Fetal Neonatal Med**, 2016.

LOCKWOOD, C.J. et al. Preeclampsia-related inflammatory cytokines regulate interleukin-6 expression in human decidual cells. **American Journal of Pathology**, v. 172, p. 1571-1579, 2008.

LOPEZ-JARAMILLO, P., GARCIA, R.G. LOPEZ, M. Preventing pregnancy-induced hypertension: are there regional differences for this global problem? **J Hypertens**, n.23, p.1121–1129, 2005.

LU, S.C. Regulation of glutathione synthesis. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 30, p. 42-59, 2009.

LUIZON, M. R; PALEI, A.C.; CAVALLI, R.C., SANDRIM, V.C. Pharmacogenetics in the treatment of pre-eclampsia: current findings, challenges and perspectives. **Pharmacogenomics**.v.18, n.6.p.571-583. 2017.

LUO, Z.C. et al. The effects and mechanisms of primiparity on the risk of pre-eclampsia: a systematic review. **Paediatric Perinatal Epidemiology**, v. 21, n. 1, p. 36-45, 2007.

LUPPI, P.; DELOIA, J.A. Monocytes of preeclamptic women spontaneously synthesize pro-inflammatory cytokines. **Clinical Immunology**, v. 118, n. 2-3, p. 268-275, 2006.

MADAZLI, R. et al. The plasma and placental levels of malondialdehyde, glutathione and superoxide dismutase in pre-eclampsia. **Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 22, n. 5, p. 477-480, 2002.

MAKKONEN, N.; HEINONEN, S.; KIRKINEN, P. Obstetric prognosis in second pregnancy after preeclampsia in first pregnancy. **Hypertension in pregnancy**, v. 19, n. 2, p. 173-181, 2000.

MALACHIAS, M.V., et al. 7th Brazilian Guideline of Arterial Hypertension: Chapter 9 - Arterial Hypertension in pregnancy. **Arq Bras Cardiol.** v.07, n.3, p.49-52. 2016.

MALSHE, A.K.; SIBAI, B.M. Angiogenic and antiangiogenic markers for prediction and risk classification of preeclampsia. **Clinical obstetrics and gynecology**, v. 60, n. 1, p. 134-140, 2017.

MALTEPE, E.; BAKARDJIEV, A.I.; FISHER, S.J. The placenta: transcriptional, epigenetic, and physiological integration during development. **Journal of Clinical Investigation**, v.120, p. 1016–1025, 2010.

MANES, C. Human Placental NAD(P)H Oxidase: Solubilization and Properties. **Placenta** v.22, p.58–63, 2001.

MANNAERTS, D. et al. Oxidative stress in healthy pregnancy and preeclampsia is linked to chronic inflammation, iron status and vascular function. **PLoS ONE**, v. 13, n. 9, p. e0202919, 2018.

MANTOVANI, A. et al. Interleukin-1 and Related Cytokines in the Regulation of Inflammation and Immunity. **Immunity**, v. 50, n. 4, p. 778-795, 2019.

MANY, A. et al. Invasive Cytotrophoblasts Manifest Evidence of Oxidative Stress in Preeclampsia. **American Journal of Pathology**, v. 156, p. 321-331, 2000.

MARONE, G et al. The Intriguing Role of Interleukin 13 in the Pathophysiology of Asthma. **Frontiers in pharmacology**. v.10. p. 1-13. 2019.

MATEUS, J. et al. Placental histopathology in mild versus severe hypertensive disorders in pregnancy: implications for feto-placental perfusion. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 199, p. S215–S215, 2008.

National Guideline Alliance (UK). Hypertension in Pregnancy: Diagnosis and Management (NG133). 2019. Available online: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng133> (accessed on 3 October 2019)

MAYO, R.P. Advances in Human Placental Biomechanics. **Computational and structural biotechnology journal**, v. 16, p. 298-306, 2018.

MAYRINK, J.; COSTA, M. L.; CECATTI, J. G. Preeclampsia in 2018: Revisiting Concepts, Physiopathology, and Prediction. **The Scientific World Journal**, v. 2018, 2018.

MEHTA, A.K.; GRACIAS, D.T.; CROFT, M. TNF activity and T cells. **Cytokine**, v. 101, p. 14-18, 2018.

MEHER, S.; DULEY, L.; HUNTER, K.; ASKIE, L. Antiplatelet therapy before or after 16 weeks' gestation for preventing preeclampsia: an individual participant data meta-analysis. **Am J Obstet Gynecol**, v.216, p. 121–128.e2. 2017.

MIHU, D. et al. Evaluation of maternal systemic inflammatory response in preeclampsia. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 54, n. 2, p. 160-166, 2015.

MIGNINI, L.E.; CARROLI, G.; BETRAN, A.P., et al. Interpregnancy interval and perinatal outcomes across Latin America from 1990 to 2009: A large multi-country study. **BJOG**.v.1; p.730–737. 2016.

MINASSIAN, C.; THOMAS, S.L.; WILLIAMS, D.J.; et al. Acute maternal infection and risk of pre-eclampsia: a population-based case-control study. **PLoS One**. v.3, n.9, p.73047, 2013.

Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção a Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. **Manual Técnico. Gestação de Alto Risco**. 5ª. ed. Brasília; 2012.

- MIRKOVIĆ, L.; NEJKOVIĆ, L.; MICIĆ, J. A new pathophysiological concept and new classification of pre-eclampsia. **Vojnosanitetski pregled**, v. 75, n. 1, p. 83-94, 2018.
- MOBINI, M. et al. Significant roles played by interleukin-10 in outcome of pregnancy. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 19, n. 2, p. 119-124, 2016.
- MOL, B.W.J., et al. Pre-eclampsia. **Lancet**. v.5, n.38, p.:999-1011.2016.
- MOLVAREC, A. et al. Increased circulating interleukin-17 levels in preeclampsia. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 112, p. 53-57, 2015.
- MONK JM, LEONARD S, MCBEY BA, CROY BA. Induction of murine spiral artery modification by recombinant human interferon- gamma. **Placenta**, n.26, p.835–838, 2005.
- MOORLAG, S.J.C.F.M. et al. The role of the interleukin-1 family in trained immunity. **Immunological Reviews**, v. 281, n. 1, p. 28-39, 2018.
- MORRIS, J.M. et al. Circulating markers of oxidative stress are raised in normal pregnancy and pre-eclampsia. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 105, n. 11, p. 1195-1199, 1998.
- MOSER, G. et al. Human trophoblast invasion: new and unexpected routes and functions. **Histochemistry and Cell Biology**, v.150, n. 4, p. 361-370, 2018.
- MOURA, E.R.F. et al. Fatores de risco para síndrome hipertensiva específica da gestação entre mulheres hospitalizadas com pré-eclâmpsia. **Cogitare Enfermagem**, v. 15, n. 2, p. 250-255, 2010.
- MUKOSERA, G.T. et al. Nitric oxide metabolism in the human placenta during aberrant maternal inflammation. **J Physiol**. v.2, 2020.
- MUJAWAR J.R.; PATEL S.S. Circulating biomarkers of oxidative stress in preeclampsia and efficacy of antioxidant Vitamin C supplementation. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v.7, n.1, p.149, 2016.
- MUSA, J. et al. Incidence and risk factors for pre-eclampsia in Jos Nigeria. **African health sciences**, v. 18, n. 3, p. 584-595, 2018.
- MUTLU-TÜRKOGLU, U. et al. Imbalance between lipid peroxidation and antioxidant status in preeclampsia. **Gynecologic and Obstetric Investigation**, v. 46, n. 1, p. 37-40, 1998.

MYATT, L.; ROBERTS, J.M. Preeclampsia: syndrome or disease? **Current hypertension reports**, v. 17, n. 11, p. 83, 2015.

NADEAU-VALLÉE, M. et al. Sterile inflammation and pregnancy complications: a review. **Reproduction**, v. 152, n. 6, p. R277-R292, 2016.

NAGASHIMA, H.; ISHII, N.; SO, T. Regulation of Interleukin-6 Receptor Signaling by TNF Receptor-Associated Factor 2 and 5 During Differentiation of Inflammatory CD4⁺ T Cells. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1986, 2018.

NETEA, M.G. et al. IL-1beta processing in host defense: beyond the inflammasomes. **PLOS Pathogens**, v. 6, n. 2, p. e1000661, 2010.

NEVES J., et al. Glutatião reduzido e oxidado da placenta na gravidez complicada com preeclampsia. **Acta médica portuguesa**. v.10: 357-360, 1997.

NIKUEI, P.; MALEKZADEH, K.; RAJAEI, M.; NEJATIZADEH A, GHASEMI N. The imbalance in expression of angiogenic and anti-angiogenic factors as candidate predictive biomarker in preeclampsia. **Iran J Reprod Med.**, v. 13. n.5. p. 251–262, 2015.

NIKOLIC, A. et al. Ceruloplasmin and antioxidative enzymes in pre-eclampsia. **Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 29,n. 18, p. 2987-2993, 2016.

NOMURA, Y.; JOHN, R.M.; JANSSEN, A.B, et al. Neurodevelopmental consequences in offspring of mothers with preeclampsia during pregnancy: underlying biological mechanism via imprinting genes. **Arch Gynecol Obstet**.v.295, n.6, p.1319–1329, 2017.

NOUROLLAHPOUR, S. M. et al. Helicobacter Pylori Infection and Risk of Preeclampsia: A Systematic Review and Meta-Analysis. **J. Matern. Fetal. Neonatal Med.**, v.32,p. 324–331, 2019.

NOYAN, T. et al. Serum advanced oxidation protein products, myeloperoxidase and ascorbic acid in pre-eclampsia and eclampsia. **Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 46, n. 6, p. 486-491, 2006.

ØDEGÅRD, R.A. et al. Risk factors and clinical manifestations of pre-eclampsia. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, v. 107, n. 11, p. 1410-1416, 2000.

OLIVEIRA, A.C.M. et al. Fatores Maternos e Resultados Perinatais Adversos em Portadoras de Pré-eclâmpsia em Maceió, Alagoas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [online], 2016.

OLIVEIRA, A.C.M.; GRACILIANO, N.G. Síndrome hipertensiva da gravidez e diabetes mellitus gestacional em uma maternidade pública de uma capital do Nordeste brasileiro, 2013: prevalência e fatores associados. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 3, p. 441-451, 2015.

OLSEN, S.F.; SECHER, N.J.; TABOR, A.; WEBER, T.; WALKER, J.J.; GLUUD, C. Randomised clinical trials of fish oil supplementation in high-risk pregnancies. Fish Oil Trials in pregnancy (FOTIP). **BJOG: British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 107, p. 382–395. 2000.

OMU, A.E.; MAKHSEED, M.; AL-QATTAN, F. The comparative value of interleukin-4 in sera of women with preeclampsia and cord sera. **Nutrition**. v.11, n.5, p.688-91. 1995.

ORABONA, R. et al. Placental histological patterns and uterine artery Doppler velocimetry in pregnancies complicated by early or late pre-eclampsia. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, v. 47, n. 5, p. 580-585, 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Health aspects of low birth weight**. Geneve: WHO; 1961. [Tech Rep Series n. 217].

PAIVA, P.; SALAMONSEN, L.A.; MANUELPIILLAI U.; DIMITRIADIS, E. Interleukin 11 inhibits human trophoblast invasion indicating a likely role in the decidual restraint of trophoblast invasion during placentation. **Biol Reprod** v.80, n.2, p.302–310. 2009.

PATON, L.N.; MOCATTA, T.J.; RICHARDS, A.M.; WINTERBOURN, C.C. Increased thrombin-induced polymerization of fibrinogen associated with high protein carbonyl levels in plasma from patients post myocardial infarction. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 48, n. 2, p. 223-229, 2009.

PEIXOTO, A.B. et al. Evaluation of inflammatory mediators in the deciduas of pregnant women with pre-eclampsia/eclampsia. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 29, n. 1, p. 75-79, 2016.

PERAÇOLI, J.C.; RUDGE, M.V.; PERAÇOLI, M.T. Tumor Necrosis Factor-alpha in Gestation and Puerperium of Women with Gestational Hypertension and Pre-eclampsia. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 57, n. 3, p. 177-185, 2007.

PERAÇOLI, J.C. et al. Pre-eclampsia/Eclampsia. **Rev Bras Ginecol Obstet**. v.41.n.5, p.318-332, 2019.

PERRY, J.J. et al. The structural biochemistry of the superoxide dismutases. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1804, n. 2, p. 245-262, 2009.

PERUCCI, L.O. et al. Resolution of inflammation pathways in preeclampsia-a narrative review. **Immunologic Research**, v. 65, n. 4, p. 774-789, 2017.

PESTKA, S. et al. Interleukin-10 and related cytokines and receptors. **Annual Review of Immunology**, v. 22, p. 929-979, 2004.

PHANG, M.; SKILTON, M.R. Marine Omega-3 Fatty Acids, Complications of Pregnancy and Maternal Risk Factors for Offspring Cardio-Metabolic Disease. **Mar Drugs**, v.16, n.5, p.138. 2018.

PICK E.; KEISARI Y, "A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture," **Journal of Immunological Methods**, v. 38, n. 1-2, p. 161–170, 1980

POON, L.C. et al. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on pre-eclampsia: A pragmatic guide for first-trimester screening and prevention. **International Journal of Gynecology & Obstetrics**, v. 145, n. 1, p. 1–33, 2019.

PREMRU-SRSEN, T.; KOCIC, Z.; VERDENIK, I. Effect of current guidelines on prevention of pre-eclampsia with low-dose aspirin in primary settings: A population-based case-control study. **Int J Gynaecol Obstet**, v. 4, 2020.

PRINS, J.R.; GOMEZ-LOPEZ, N.; ROBERTSON, S. A. Inter- leukin-6 in pregnancy and gestational disorders. **J. Reprod. Immunol.** v.95, p. 1–14. 2012.

PTACEK, I. et al. Systematic review of placental pathology reported in association with stillbirth. **Placenta**, v. 35, n. 8, p. 552-562, 2014.

RAGHUPATHY, R. Cytokines as key players in the pathophysiology of preeclampsia. **Medical Principles and Practice**, v. 22, n. 1, p. 8-19, 2013.

RANI, N. et al. Role of oxidative stress markers and antioxidants in the placenta of preeclamptic patients. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 36, n. 6, p. 1189-1194, 2010.

REDMAN, C.W.; SARGENT, I.L. Latest advances in understanding preeclampsia. **Science**, v. 308, n. 5728, p. 1592-1594, 2005.

REDMAN, C.W.; SARGENT, I.L. Pre-eclampsia, the Placenta and the Maternal Systemic Inflammatory. **Placenta**, v. 17, p.S21–S27, 2003.

REDMAN, C.W.G.; STAFF, A.C. Preeclampsia, biomarkers, syncytiotrophoblast stress and placental capacity. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 213, n.4, p. S9.e1-S9. e4, 2015.

REYES, L.M. et al. Risk factors for preeclampsia in women from Colombia: a case-control study. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e41622, 2012.

REZENDE, K.B. et al. Preeclampsia: Prevalence and perinatal repercussions in a University Hospital in Rio de Janeiro, Brazil. **Pregnancy Hypertension**, v. 6, n. 4, p. 253-255, 2016.

ROBERTS, J.M.; ESCUDERO, C. The placenta in preeclampsia. **Pregnancy Hypertension**, v. 2, n. 2, p. 72-83, 2012.

ROBERTS, R.M.; GREEN, J.A.; SCHULZ, L.C. The evolution of the placenta. **Reproduction**, v. 152, n. 5, p. R179-89, 2016.

ROMERO, R.; NIEN, J.K.; ESPINOZA, J., et al. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor 1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. **J Matern Fetal Neonatal Med.**, v.21, n.1, p.9–23, 2008.

ROMERO, R.; CHAEMSAITTHONG, P.; TARCA, A.L.; KORZENIEWSKI, S.J.; MAYMON, E.; PACORA, P. et al. Maternal plasma solubleST2 concentrations are elevated prior to the developemnt of early and late onset preeclampsia a longitudinal study. **J Matern Fetal Neonatal med.** v. 31, n.4, p. 418-432, 2018.

ROLNIK, D.L.; O'GORMAN, N.; ROBERGE, S.; BUJOLD, E. et al. Early screening and prevention of preterm pre-eclampsia with aspirin: time for clinical implementation. **Ultrasound Obstet Gynecol.** v.50, n.5, p.551-556. 2017.

ROSENFELD, C.S. Placental Serotonin Signaling, Pregnancy Outcomes, and Regulation of Fetal Brain Development. **Biol Reprod.** 2019.

RUSTVELD, L.O.; KELSEY, S.F.; SHARMA, R. Association between Maternal Infections and Preeclampsia: A Systematic Review of Epidemiologic Studies. **Matern. Child Health J.** v.12, p. 223–242, 2008.

SACCONE, G.; SACCONE, I; BERGHELLA, V. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and fish oil supplementation during pregnancy: which evidence? **J Matern Fetal Neonatal Med.**v.29, n.15, p.2389-97, 2016.

SAHAY, A.S.; SUNDRANI, D.P.; JOSHI, S.R. Regional changes of placental vascularization in preeclampsia: a review. **International Union of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 67, n. 8, p. 619-625, 2015.

SAHAY, A.S, et al. Regional differences in the placental levels of oxidative stress markers in pre-eclampsia. **Int J Gynaecol Obstet**.v.129, n.3, p.213-8, 2015.

SAHIN, S. et al. The impact of platelet functions and inflammatory status on the severity of preeclampsia. **Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, v. 28, n. 6, p. 643-648, 2014.

SALAVATI, N. et al. The Possible Role of Placental Morphometry in the Detection of Fetal Growth Restriction. **Frontiers in Physiology**, v. 9, n.1884, p. 1-12, 2019.

SANKAR, K.D. et al. Vasculosyncytial membrane in relation to syncytial knots complicates the placenta in preeclampsia: a histomorphometrical study. **Anatomy & cell biology**, v. 45, n. 2, p. 86–91, 2012.

SÁNCHEZ-ARANGUREN, L.C. et al. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress. **Frontiers in Physiology**, v.5, p.372, 2014.

SARGENT, I.L., et al. Trophoblast deportation and the maternal inflammatory response in pre-eclampsia. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 59, p. 153 – 160, 2003.

SATO, K. Placenta-derived hypo-serotonin situations in the developing forebrain cause autism. **Med Hypotheses**, v.80, p.368-372, 2013.

SCHNEIDER, C. et al. Degredation of curcumin: From mechanism to biological implications. **J Agric Food Chem**, v. 63, n. 35, p. 7606–7614, 2015.

SERDAR, Z. et al. Lipid and protein oxidation and antioxidant function in women with mild and severe preeclampsia. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 268, n. 1, p. 19-25, 2002.

SEZER, S. D. et al. VEGF, PlGF and HIF-1 α in placentas of early- and late-onset pre-eclamptic patients. **Gynecological Endocrinology**, v. 29, n. 8, p. 797-800, 2013.

SHAH, D. A.; KHALIL, R. A. Bioactive factors in uteroplacental and systemic circulation link placental ischemia to generalized vascular dysfunction in hypertensive pregnancy and preeclampsia. **Biochemical pharmacology**, v. 95, n. 4, p. 211-226, 2015.

SHAHEEN, G, et al. Placental endothelial nitric oxide synthase expression and role of oxidative stress in susceptibility to preeclampsia in Pakistani women. **Mol Genet Genomic Med.** v.8, n.1, p.e1019, 2020.

SHARMA, J.B. et al. Oxidative stress markers and antioxidant levels in normal pregnancy and pre-eclampsia. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, v. 94, n. 1, p. 23-27, 2006.

SHEN, M. et al. Comparison of risk factors and outcomes of gestational hypertension and pre-eclampsia. **PloS one**, v. 12, n. 4, p. e0175914, 2017.

SHEN, Y. et al. Effect of blood pressure control level on perinatal outcomes in women with mild-moderate gestational hypertension. **Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi**, v. 52, n. 9, p. 586-593, 2017.

SHUKLA, J.et al. Neutrophil Release of Myeloperoxidase in Systemic Vasculature of Obese Women May Put Them at Risk for Preeclampsia. **Reprod Sci.** v.22, n.3, p.300-7. 2015.

SHRUTHI, K. B. Oxidative Stress, Antioxidant Status and Neurodevelopmental Outcome in Neonates Born to Pre-eclamptic Mothers. **The Indian Journal of Pediatrics**, v. 8, p. 351–357, 2018.

SIBAI, B.M.; MERCER, B.; SARINOGLU, C. Severe preeclampsia in the second trimester: recurrence risk and long-term prognosis. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 165, n. 5, p. 1408-1412, 1991.

SIDDIQUI, I.A. et al. Biomarkers of oxidative stress in women with pre-eclampsia. **Biomarkers in Medicine**, v. 7, n. 2, p. 229-234, 2013.

SIES, H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. **Redox biology**, v. 11, p. 613-619, 2017.

SIES, H.; BERNDT, C.; JONES, D. P. Oxidative Stress. **Annual Review of Biochemistry**, v. 86, n. 1, p. 715–748, 2017.

SIKKEMA, J.M. et al. Placental Pathology in Early Onset Pre- eclampsia and Intra-uterine Growth Restriction in Women With and Without Thrombophilia. **Placenta**, n. 4, p. 337-342, 2002.

SILVA JR, O.C. et al. Basic aspects of ischemia and reperfusion injury and ischemic preconditioning. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 17, p. 96-100, 2002.

SINGH, M.D., et al. Potential role of folate in pre-eclampsia. **Nutr Rev.** v.73, n.10, p. 694-722. 2015.

SHIMOS, A.; ALSHAREEF, A.M.; ISHAG, A. Toxoplasma gondii infection and pre-eclampsia among Sudanese women. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** p.1–4. 2018.

SMUTS, C.M.; HUANG, M.; MUNDY, D.; PLASSE, T.; MAJOR, S.; CARLSON, S.E. A randomized trial of docosahexaenoic acid supplementation during the third trimester of pregnancy. **Obstetrics and Gynecology**, v.101, p. 469–479. 2003.

SONDEREGGER, S. et al. Interleukin (IL)11 mediates protein secretion and modification in human extravillous trophoblasts. **Hum Reprod**, v.26, n.10, p.2841–2849. 2011.

SOUZA, D.A.D. et al. Aumento no material fibrinoide perivilositário nas placentas de gestações com pré-eclâmpsia. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 1, p. 71-77, 2011.

SPRINGER, H.L.C.; MATTHIESEN, L.; BERG, G.; SHARMA, S.; ERNERUDH, J.; EKERFELT, C. Cytokine secretion patterns of NK cells and macrophages in early human pregnancy decidua and blood: implications for suppressor macrophages in decidua. **Am J Reprod Immunol.** n. 50, p.444–452. 2014.

STRIZ, I. et al. Epithelial cells modulate genes associated with NF kappa B activation in co-cultured human macrophages. **Immunobiology**, v. 216, n. 10, p. 1110-1116, 2011.

SUCHITRA, R.O.Y., et al Differential oxidative stress levels in mothers with preeclampsia delivering male and female babies. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v.28, n.16, p. 1973-1980, 2015.

SULTANA, Z. et al. Oxidative stress, placental ageing-related pathologies and adverse pregnancy outcomes. **American Society for Reproductive Immunology**, v. 77, n. 5, p. e12653, 2017.

SUMIMOTO, H. Structure, regulation and evolution of Nox-family NADPH oxidases that produce reactive oxygen species: Structure, regulation and evolution of Nox. **FEBS J.** v.275, p. 3249–3277, 2008.

SUN, L. et al. Association between higher expression of interleukin-8 (IL-8) and haplotype -353A/-251A/+678T of IL-8 gene with preeclampsia: A case-control study. **Medicine** (Baltimore), 2016.

SYKES, L., et al. The Th1:Th2 Dichotomy of Pregnancy and Preterm Labour. **Mediators of Inflammation.** v. 20, p.12, 2012.

TAKACS, P. et al. Increased circulating lipid peroxides in severe preeclampsia activate NF-kappaB and upregulate ICAM-1 in vascular endothelial cells. **FASEB Journal**, v. 15, n. 2, p. 279-281, 2001.

TAYSI, S. et al. Radicals, Oxidative/Nitrosative Stress and Preeclampsia. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 3, p. 178-193, 2019.

TEIXEIRA, B. C. et al. Inflammatory markers, endothelial function and cardiovascular risk. **Jornal Vascular Brasileiro** [online], v.13, n. 2 p. 108-115, 2014.

TENÓRIO, M.B.et al. Oral antioxidant therapy for prevention and treatment of preeclampsia: Meta-analysis of randomized controlled trials. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**.v.28, n.9, p.:865-876. 2018.

TIPPLE, T.E.; ROGERS, L.K. Methods for the determination of plasma or tissue glutathione levels. **Methods Mol Biol**.v.889, p.315-24. 2012.

TORRES-CUEVAS, I. et al. Oxygen and oxidative stress in the perinatal period. **Redox biology**, v. 12, p. 674-681, 2017.

TOSUN, M. et al. Maternal and umbilical serum levels of interleukin-6, interleukin-8, and tumor necrosis factor-alpha in normal pregnancies and in pregnancies complicated by preeclampsia. **Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 23, n. 8, p. 880-886, 2010.

TROGSTAD, L.; MAGNUS, P.; STOLTENBERG, C. Pre-eclampsia: Risk factors and causal models. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 25, p. 329–342, 2011.

TSUKIMORI, K et al. Serum uric acid levels correlate with plasma hydrogen peroxide and protein carbonyl levels in preeclampsia. **American Journal of Hypertension**, v. 21, n. 12, p. 1343-1346, 2008.

TUROWSKI, G. et al. The structure and utility of the placental pathology report. **Apmis**, v. 126, n. 7, p. 638-646, 2018.

TURPIN, C.A. et al. Association between adverse pregnancy outcome and imbalance in angiogenic regulators and oxidative stress biomarkers in gestational hypertension and preeclampsia. **BMC pregnancy and childbirth**, v. 15, n. 1, p. 189, 2015.

UDENZE, I.C. Association of pre-eclampsia with metabolic syndrome and increased risk of cardiovascular disease in women: A systemic review. **Nigerian journal of clinical practice**, v. 19, n. 4, p. 431-435, 2016.

UZAN, J. et al. Pre-eclampsia: pathophysiology, diagnosis, and management. **Vascular Health and Risk Management**, v. 7, p. 467-474, 2011.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, p. 44-84, 2007.

VANDERLELIE, J. et al. Increased biological oxidation and reduced anti-oxidant enzyme activity in pre-eclamptic placentae. **Placenta**, v. 26, n. 1, p. 53- 58, 2005.

VARFOLOMEEV, E.; VUCIC, D. Intracellular regulation of TNF activity in health and disease. **Cytokine**, v. 101, p. 26-32, 2018.

VASCONCELOS, S.M.L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova** [online], v. 30, n.5, p. 1323-1338, 2007.

VAUGHAN, J.E.; WALSH, S.W. Activation of NF-κB in placentas of women with preeclampsia. **Hypertension in Pregnancy**, v. 31, n. 2, p. 243-251, 2012.

VELZING-AARTS, F. V. et al. High serum interleukin-8 levels in afro-caribbean women with pre-eclampsia. Relations with tumor necrosis factor-alpha, duffy negative phenotype and von Willebrand factor. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 48, n. 5, p. 319-322, 2002.

VENKATESHA, S. et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. **Nat Med.**, v. 12,n.6, p. 642-9, 2006.

VICKIE, L.; TATUM, C.C., CHING, K. C.C. Measurement of malondialdehyde by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Lipids**, v. 25, n. 4, p. 226–229, 1990.

VILLAR, J.; CHEIKH ISMAIL, L.; VICTORA, C.G.; OHUMA, E.O.; BERTINO, E.A.D.G, et al. International Fetal and Newborn Growth Consortium for the 21st Century (INTERGROWTH-21st). International standards for newborns weight, length, and head circumference by gestational age and sex: The Newborns Cross-Sectional Study of the INTERGROWTH-21st Project. **Lancet**. v.384, n. 9946, p.857-68, 2014.

VOLP, A.C.P. et al. Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em predizer a síndrome metabólica: Inflammation biomarkers capacity in predicting the metabolic syndrome. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia** [online], v.52, n. 3, p.537-549, 2008.

VON DADELSZEN, P.; MAGEE, L.A.; ROBERTS, J.M. Subclassification of preeclampsia. **Hypertension in pregnancy**, v. 22, n. 2, p. 143-148, 2003.

WAGNEW, M. et al. Trends of preeclampsia/eclampsia and maternal and neonatal outcomes among women delivering in addis ababa selected government hospitals, Ethiopia: a retrospective cross-sectional study. **Pan African Medical Journal**, v. 25, n. 2, p. 1-6, 2016.

WARRINGTON, J.P. et al. Recent advances in the understanding of the pathophysiology of preeclampsia. **Hypertension**, v. 62, n. 4, p. 666–673, 2013.

WATSON, A.L.; SKEPPER, J.N.; JAUNIAUX, E.; BURTON, G.J. Changes in concentration, localization and activity of catalase within the human placenta during early gestation. **Placenta**. v.19, p.27–34, 1998.

WELL, I.C. et al. Association between Placental Lesions, Cytokines and Angiogenic Factors in Pregnant Women with Preeclampsia. **PLoS One**, v. 11, n. 6, p. e0157584, 2016.

WIDMER, M.; VILLAR, J.; BENIGNI, A.; CONDE-AGUDELO, A.; KARUMANCHI, S.A.; LINDHEIMER, M. Mapping the theories of preeclampsia and the role of angiogenic factors: a systematic review. **Obstet Gynecol**, v. 109, n.1, p. 168-80, 2007.

WILLIAMSON, R.D. et al. Oxidative stress in pre-eclampsia; have we been looking in the wrong place? **Pregnancy Hypertension**, v. 8, p. 1-5, 2017.

WILLIAMS, P.J.; PIPKIN, F.B. The genetics of pre-eclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy. **Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology**, v. 25, n. 4, p. 405-417, 2011.

WINSHIP, A.; DIMITRIADIS, E. Interleukin 11 is upregulated in preeclampsia and leads to inflammation and preeclampsia features in mice. **Journal of Reproductive Immunology**, v.125 p.32-38, 2018.

WINSHIP, A.L., et al. Interleukin-11 alters placentation and causes preeclampsia features in mice. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.** v.112, p.15928–15933, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Recomendações da OMS para a prevenção e tratamento da pré-eclâmpsia e da eclâmpsia: Implicações e ações**. Geneva: World Health Organization, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO recommendations for prevention and treatment of pre-eclampsia and eclâmpsia**. Geneva: World Health Organization, 2011.

WU, F.; TIAN, F.J.; LIN, Y. Oxidative stress in placenta: health and diseases. **BioMed research international**, v. 2015, 2015.

WU, J.L. et al. Placental Origins of Preeclampsia: Potential Therapeutic Targets. **Current Medical Science**, v. 39, n. 2, p. 190-195, 2019.

YANG, Y.; SU, X.; XU, W.; ZHOU, R. Interleukin-18 and interferon gamma levels in preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. **Am J Reprod Immunol**, v. 72, p. 504–514, 2014.

YILDIRIM, A. et al. Plasma xanthine oxidase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities and uric acid levels in severe and mild preeclampsia. **Cell Biochemistry and Function**, v. 22, p. 213–217, 2004.

YONEKURA COLLIER, A.R.; ZSENGELLER, Z.; PERNICONE, E.; SALAHUDDIN, S.; KHANKIN, E.V.; KARUMANCHI, S.A. Placental sFLT1 is associated with complement activation and syncytiotrophoblast damage in preeclampsia. **Hypertens Pregnancy**, v. 8, n.3, p.193–199, 2019.

YOON, B. H.; ROMERO, R.; PARK, J.S. et al., “Fetal exposure to an intra-amniotic inflammation and the development of cerebral palsy at the age of three years,” **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, vol. 182, no. 3, pp. 675–681, 2000.

YUNG, H.W. et al. A ativação diferencial das vias de resposta proteica desdobradas da placenta implica heterogeneidade na causa da pré-eclâmpsia precoce e tardia. **Journal of pathology**, v. 234, n. 2, p. 262-276, 2014.

WEISSENBACHER, E. R., WIRTH, M., MYLONAS, I., LEDGER, W. J., WITKIN, S. S. *Immunology of the Female Genital Tract*. Heidelberg: Springer; 2015.

ZÁRATE, A. et al. Early disturbed placental ischemia and hypoxia creates immune alteration and vascular disorder causing preeclampsia. **Archives of Medical Research**, v. 45, n. 7, p. 519-524, 2014.

ZENG, B. et al. Detection and identification of the oxidizing species generated from the physiologically important Fenton-like reaction of iron (II)-citrate with hydrogen peroxide. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 668, p. 39-45, 2019.

ZHOU, C.C.; AHMAD, S. M.I. T., et al. Angiotensin II induces soluble fms-Like tyrosine kinase-1 release via calcineurin signaling pathway in pregnancy. **Circ Res.**, v .100, n.1, p. 88–95, 2007.

ZOURBAS, S.; DUBANCHET, S.; MARTAL, J.; CHAOUAT, G. Localization of pro-inflammatory (IL-12, IL-15) and anti-inflammatory (IL-11, IL-13) cytokines at the foetomaternal interface during murine pregnancy. *Clin Exp Immunol.* v.126, n.3, p.519–528. 2001.

ZUSTERZEEL, P.L. et al. Plasma protein carbonyls in nonpregnant, healthy pregnant and preeclamptic women. **Free Radical Research**, v. 33, n. 5, p. 471-476, 2000.

APÊNDICE A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (T.C.L.E.)

(Em 2 vias, firmado por cada participante voluntário (a) da pesquisa e pelo responsável)

“O respeito devido à dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após o consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência à participação na pesquisa”

Eu,....., responsável pela menor convidada a participar como voluntária do estudo **CARACTERIZAÇÃO DE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E DE DESBALANÇO REDOX EM GESTANTES COM PRÉ-ECLÂMPSIA: RELAÇÃO COM O ESTADO NUTRICIONAL E REPERCUSSÕES MATERNAS E FETAIS** que será realizado no: Hospital Universitário Professor Alberto Antunes (HUPAA) da cidade de Maceió-Alagoas, recebi da Profª Drª Alane Cabral Menezes de Oliveira, responsável por sua execução, as seguintes informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- 1) Que o estudo se destina a estudar os fatores determinantes do distúrbio hipertensivo da gestação em gestantes de alto risco portadoras de pressão alta internadas na maternidade de um hospital escola da cidade de Maceió-Alagoas.
- 2) Que a importância deste estudo é a de controlar e diminuir fatores de risco associados a gestação que afetam o desenvolvimento da criança, de gestantes atendidas pelo Hospital Universitário de Maceió-Alagoas.
- 3) Que os resultados que se desejam alcançar são os seguintes: Conhecer problemas associados à gravidez de alto risco; Conhecer a relação entre o consumo de nutrientes e hipertensão na gestação; Conhecer o estado nutricional materno; Promover educação nutricional.
- 4) Que este estudo começará em janeiro de 2015 e terminará em dezembro de 2017.
- 5) Que o estudo será realizado na maternidade do HUPAA, e feito da seguinte maneira: (1) aplicação de questionário e coleta de informações do prontuário médico (2) coleta das medidas antropométricas (peso e altura) e (3) coleta de sangue.
- 6) Que eu participarei de todas as etapas listadas no item 5.
- 7) Que os incômodos que poderei sentir com a minha participação são os seguintes: entrevistada, pesada, medida e furada para a coleta de sangue.
- 8) Poderei me sentir constrangida ao ser entrevistada, porém eu somente responderei àquilo que quiser e que tudo que for respondido ficará no mais absoluto sigilo; Poderei sentir desconforto nos aparelhos utilizados nas medidas antropométricas, porém as coletas não serão demoradas, e serão eficientes e que eu não sentirei dor. E poderei sentir um pouco de dor na coleta de sangue, mas será feita por profissional capacitado e qualificado, funcionários do laboratório do HUPAA. E ainda com risco que poderei me sentir inibida diante do observador ou constrangida pelo fato de estar sendo observada.
- 9) Que poderei contar com a seguinte assistência: de nutrição, sendo responsável (is) por ela: a nutricionista Alane Cabral Menezes de Oliveira
- 10) Que os benefícios que deverei esperar com a minha participação são: conhecer os fatores de risco que podem piorar o meu estado de saúde, minha gestação e o desenvolvimento do meu bebê (alimentação inadequada, pressão alta, obesidade, colesterol, glicose (açúcar) e triglicérido (gordura) no sangue elevados, entre outros fatores de risco) e poder receber orientações para modificá-los, contribuindo para uma melhor qualidade de vida.
- 11) Que a minha participação será acompanhada do seguinte modo: através de visitas a enfermaria onde estou internada no Hospital Universitário de Maceió-Alagoas .
- 12) Que, sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.
- 13) Que, a qualquer momento, eu poderei recusar a continuar participando do estudo e, também, que eu poderei retirar este meu consentimento, sem que isso me traga qualquer penalidade ou prejuízo.
- 14) Que as informações conseguidas através de minha participação não permitirão a identificação da minha pessoa, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.
- 15) Que eu serei ressarcida por qualquer despesa e indenizada por qualquer dano que venha a sofrer com a minha participação, sendo a mesma em dinheiro (danos morais) e/ou em forma de tratamento (transtorno mental).

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e, estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implicam, concordo em dela participar e, para tanto eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Endereço do (a) participante voluntário (a):

Domicílio: (rua, conjunto)Bloco:
Nº:.....complemento:.....
Bairro: Cidade: CEP:..... Telefone:..... Ponto de referência:
.....

Contato de urgência (participante):Sr (a):

Domicílio: (rua, conjunto)Bloco:
Nº:.....complemento:.....
Bairro: Cidade: CEP:..... Telefone:..... Ponto de referência:
.....

Nome e Endereço do Pesquisador Responsável: (Obrigatório)

Nome: Alane Cabral Menezes de Oliveira Telefone p/ contato: (82) 9153-5740

Instituição: Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas

Endereço: Campus A.C. Simões. Av. Lourival Melo Mota, s/ n Bairro: Tabuleiro dos Martins

Cidade: Maceió CEP. 57072-970 Telefones p/ contato: (82) 3214-1160

ATENÇÃO: Para informar ocorrências irregulares ou danosas, dirija-se ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas: Campus A.C. Simões. Av. Lourival Melo Mota, s/ n, Tabuleiro dos Martins, Maceió-AL, CEP. 57072-970.

**Assinatura ou impressão datiloscópica
do(a) voluntário(a) ou responsável legal**
(rubricar as demais folhas)

Assinatura do responsável pelo Estudo
(rubricar as demais folhas)

APÊNDICE B
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROF. ALBERTO ANTUNES

QUESTIONÁRIO PARA COLETA DE DADOS DA PESQUISA: CARACTERIZAÇÃO DE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E DE DESBALANÇO REDOX EM GESTANTES COM PRÉ-ECLÂMPSIA: RELAÇÃO COM O ESTADO NUTRICIONAL E COM AS REPERCUSSÕES MATERNAS E FETAIS

Data: ___/___/___

Entrevistador: _____

1. DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

Iniciais: _____ Semanas de gestação: _____ ou DUM: ___/___/___

Enfermaria/Leito: _____ Nº Prontuário: _____ Data de Nascimento:

_____/_____/_____ Idade: _____ Procedência: _____

Naturalidade: _____

Telefone para contato: _____

2. DADOS SÓCIO-ECONÔMICOS

Nº de Membros da Família: _____ Renda Familiar: R\$ _____

Escolaridade: _____ Atividade profissional: _____

Etnia: () branca () negra () parda () outros

União estável: Sim () Não () Idade do conjugê: _____

3. ANTECEDENTES PERINATAIS/PESSOAIS/ FAMILIARES

Pré-eclâmpsia anterior: Sim () Não ()

Familiares com pré-eclâmpsia: Sim () Não () Quem? _____

Tabagismo: Sim () Não () Etilismo: Sim () Não ()

Drogas ilícitas: Sim () Não ()

Doenças crônicas: () hipertensão () diabetes () trombofilia () HIV () anemia falciforme () Síndrome do anticorpo antifosfolipídico () Outras Qual (s): _____

Uso de medicamentos durante esta gestação: Sim () Não () Qual (s): _____

Paridade: () 0 () 1 () 2 () 3 () 4 ou mais

Abortos: Sim () Não () Qtos ? _____

Presença de gravidez múltipla passada: Sim () Não ()

Uso de ácido fólico nesta gravidez: () prévio a concepção () no início do 1º trim () não tomou

4. DADOS DIETÉTICOS

Já fez ou faz alguma dieta especial: Não () Sim ()

Especificar: _____

Recebeu Orientação Dietética: Não () Sim () Por quem ? _____

Faz Restrição de: Sal () Não () Sim Açúcar: Sim () Não ()

Uso de suplementos ou polivitamínicos? Sim () Não () Qual (s)? _____

Trânsito Intestinal: () Regular () Constipação () Diarréia

Uso de adoçantes: Sim () Não () Qual (s): _____

Pressão arterial: _____

4.1 – FREQUÊNCIA ALIMENTAR

TABELA 1. Frequência de consumo de substâncias antioxidantes na alimentação.

FREQUÊNCIA ALIMENTOS ANTIOXIDANTES	NUNCA	RARAMENT E	REGULARMEN TE	QUASE SEMPRE	SEMPRE	QUAL(IS)?
VITAMINA C: Acerola, aspargos, brócolis, couve, limão, laranja, kiwi, goiaba, pimentão.						
VITAMINA A: Leite, ovos, fígado, queijo, óleo de peixe, cenoura e manteiga.						
VITAMINA E: Germe de trigo, amêndoa, avelã, maionese, óleo de milho e girassol, gema de ovo e manteiga.						
BETACAROTENO: Vegetais e frutas verde-escuros e alaranjados, cenoura, batata doce, tomate, espinafre, noz moscada, manga, papaia, damasco, brócolis.						
SELENIO: Frutos do mar, peixe, queijo, frango, ovos, fígado, grãos e sementes cultivados em solo rico em selênio: castanha, semente de girassol.						
FLAVONOIDES: Leite de soja, farinha de soja, tofu, shoyo, uva, vinho, cebola, repolho,						
COENZIMA-Q10: Peixes, nozes, carnes magras (frango) gorduras poli- insaturadas (óleos vegetais,						

efeição	Rec 24h (2º)
Café da Manhã	<hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>
Lanche	<hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>
Almoço	<hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>
Lanche	<hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>
Jantar	<hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>
Ceia	<hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>

5 – DADOS ANTROPOMÉTRICOS

Peso Atual: _____ Kg Peso Habitual: _____ Kg Estatura _____ cm IMC
 atual: _____ Kg/m²
 IMC habitual: _____ Kg/ m²
 Pressão arterial: _____

6- DADOS DO RECÉM NASCIDO – PÓS PARTO

Data do nascimento: ____/____/____ Sexo: () Fem. () Masc. Tipo de parto: () normal () cesariano

Nascimento: () a termo () pre-termo () pós-termo

Qtde de semanas gestacionais no momento do parto: _____

Peso ao nascer: _____ Kg Comprimento ao nascer: _____ Kg


Intercorrência durante o parto: () Sim () Não. Qual (s)? _____

APÊNDICE C - Artigos publicados durante o período de doutorado relacionados ao público-alvo


Artigo 1- Adverse perinatal outcomes of pregnancies among adolescents vs women of advanced age in the Brazilian public health system - Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil- 2019

Adverse perinatal outcomes of pregnancies among adolescents vs women of advanced age in the Brazilian public health system


Larissa de Lima Pessoa Veiga ¹

 <https://orcid.org/0000-0001-8527-7786>


Sandra Mary Lima Vasconcelos ⁵

 <http://orcid.org/0000-0002-9438-3537>


Micaely Cristina dos Santos Tenório ²

 <https://orcid.org/0000-0002-1771-489X>


Nassib Bezerra Bueno ⁶

 <https://orcid.org/0000-0002-3286-0297>


Raphaella Costa Ferreira ³

 <http://orcid.org/0000-0002-1613-8819>

Alane Cabral Menezes de Oliveira ⁷

 <https://orcid.org/0000-0002-7497-919X>

Marilene Brandão Tenório ⁴

 <https://orcid.org/0000-0002-7504-0491>

¹⁻⁷ Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas, Campus A.C. Simões, BR 104 Norte, Km 96,7, Tabuleiro dos Martins, Maceió, AL, Brasil. CEP: 57.072-970. E-mail: alanecabral@gmail.com

Abstract

Objectives: to compare the adverse perinatal outcomes in pregnancies of adolescents and elderly women of public health network.

Methods: a cross-sectional study carried out with pregnant women at the extremes of reproductive age according to the classification of the Brazilian Ministry of Health (adolescents those aged ≤ 19 years and those who were older than 35 years) and their newborns. Socioeconomic data (income, schooling, occupation and marital status), as well as clinical (diseases), anthropometric (maternal BMI) and perinatal (gender, weight, length, Apgar and gestational age) data were collected, and Poisson regression in hierarchical model was performed, with the results in Ratio of Prevalence (PR) and its respective Confidence Interval at 95% (95% CI).

Results: when comparing adolescent and elderly women, 38.7% vs 54.6% (PR= 0.71, CI=0.54-0.94, $p=0.002$) were observed, respectively, cesarean deliveries; 37.8% vs 25.2% (PR=0.83, CI= 0.58-1.19, $p=0.332$) preterm births; 16.6% vs 20.5% (RP= 1.07, CI= 0.78-1.46, $p=0.666$) births of small infants for gestational age (SGA); 18.0% vs 15.3% (RP= 1.01, CI=0.69-1.47, $p=0.948$) births of large-for-gestational-age newborns (LGA); 32.2% vs 34.7% (RP= 1.08, CI= 0.82-1.42, $p=0.578$), low birth weight infants and 28.5% vs 42.9% (RP= 1.18, CI= 0.91-1.54, $p=0.201$) with high birth length.

Conclusions: When compared with adolescent women, pregnant women of advanced age presented a higher frequency of cesarean deliveries.

Key words Maternal age, Pregnancy complications, Pregnant women

Artigo 2 - Cross-Talk between Oxidative Stress and Inflammation in Preeclampsia - Oxidative medicine and cellular longevity - 2019

Review Article

Cross-Talk between Oxidative Stress and Inflammation in Preeclampsia

Marilene Brandão Tenório,^{1,2} Raphaela Costa Ferreira,³ Fabiana Andréa Moura,¹ Nassib Bezerra Bueno,¹ Alane Cabral Menezes de Oliveira ¹ and Marília Oliveira Fonseca Goulart ^{2,3}

¹Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas, Campus A.C. Simões, BR 104 Norte, Km 96, 7, Tabuleiro dos Martins, CEP 57.072-970 Maceió, Alagoas, Brazil

²Instituto de Química e Biotecnologia (IQB/UFAL), Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Universidade Federal de Alagoas, Campus A.C. Simões, BR 104 Norte, Km 96, 7, Tabuleiro dos Martins, CEP 57.072-970 Maceió, Alagoas, Brazil

³Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, ICBS, Universidade Federal de Alagoas, Campus A.C. Simões, BR 104 Norte, Km 96, 7, Tabuleiro dos Martins, CEP 57.072-970 Maceió, Alagoas, Brazil

Correspondence should be addressed to Alane Cabral Menezes de Oliveira; alanecabral@gmail.com and Marília Oliveira Fonseca Goulart; mariliaofg@gmail.com

Received 30 May 2019; Accepted 9 September 2019; Published 4 November 2019

Academic Editor: Daniela Giustarini

Copyright © 2019 Marilene Brandão Tenório et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

The occurrence of hypertensive syndromes during pregnancy leads to high rates of maternal-fetal morbidity and mortality. Amongst them, preeclampsia (PE) is one of the most common. This review aims to describe the relationship between oxidative stress and inflammation in PE, aiming to reinforce its importance in the context of the disease and to discuss perspectives on clinical and nutritional treatment, in this line of research. Despite the still incomplete understanding of the pathophysiology of PE, it is well accepted that there are placental changes in pregnancy, associated with an imbalance between the production of reactive oxygen species and the antioxidant defence system, characterizing the placental oxidative stress that leads to an increase in the production of proinflammatory cytokines. Hence, a generalized inflammatory process occurs, besides the presence of progressive vascular endothelial damage, leading to the dysfunction of the placenta. There is no *consensus* in the literature on the best strategies for prevention and treatment of the disease, especially for the control of oxidative stress and inflammation. In view of the above, it is evident the important connection between oxidative stress and inflammatory process in the pathogenesis of PE, being that this disease is capable of causing serious implications on both maternal and fetal health. Reports on the use of anti-inflammatory and antioxidant compounds are analysed and still considered controversial. As such, the field is open for new basic and clinical research, aiming the development of innovative therapeutic approaches to prevent and to treat PE.

Artigo 3 - Hyperferritinemia worsens the perinatal outcomes of conceptions of pregnancies with preeclampsia - Pregnancy Hypertension -2019



Contents lists available at ScienceDirect

Pregnancy Hypertension

journal homepage: www.elsevier.com/locate/preghy



Hyperferritinemia worsens the perinatal outcomes of conceptions of pregnancies with preeclampsia

João Victor F. Silva^a, Raphaela C. Ferreira^b, Marilene B. Tenório^c, Micaely C.S. Tenório^a, Jonas A.C. Silveira^a, Andréa C.M. Amaral^d, Marília O.F. Goulart^{c,e}, Fabiana A. Moura^a, Alane C.M. Oliveira^{a,*}

^a Nutrition College of Federal University of Alagoas, Brazil

^b Institute of Biological Sciences and Health, Federal University of Alagoas, Brazil

^c Northeast Network of Biotechnology, Federal University of Alagoas Focal Point, Brazil

^d University Hospital Professor Alberto Antunes, Federal University of Alagoas, Brazil

^e Institute of Chemistry and Biotechnology, Federal University of Alagoas, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Preeclampsia
Inflammation
Ferritin
Fetal development
Newborn

ABSTRACT

Background and aims: To analyze the prevalence of hyperferritinemia in pregnant women with preeclampsia and its association with adverse perinatal outcomes.

Methods: A cross-sectional study carried out in 2017 with a convenience sample of pregnant women with preeclampsia attended at a high-risk maternity hospital in Alagoas, Brazil. Socioeconomic, lifestyle, clinical and biochemical data were collected through a structured questionnaire. Type of delivery, gestational age, weight and length at birth, and Apgar score were analyzed as outcome variables. Women were dichotomized according to the serum ferritin level (150 ng/mL). Poisson regression models were used to analyze the effect of hyperferritinemia on the outcome variables. Estimates were presented as prevalence ratio with 95% confidence intervals (PR [95% CI]).

Results: Based on the Fisher's exact statistical teste and in the proportions of the neonatal outcome (birth weight), with a statistical significance of 5%, the statistical power of the sample studied was 83%. Two hundred six pregnant women with preeclampsia were recruited, which 8.74% presented hyperferritinemia. Except for ferritin level, there were no differences in C-reactive protein (CRP), hemoglobin, Glutamate Oxaloacetate Transaminase (GOT) and Pyruvic Glutamic Transaminase (PGT) levels between women with or without hyperferritinemia. After adjusting for potential confounders, hyperferritinemia was associated with low birth weight (2.19 [2.13–3.89 95%CI]), low birth length (7.76 [2.52–23.8 95% CI]) and being born small for gestational age (3.14 [1.36–7.28 95% CI]).

Conclusion: In the presence of hyperferritinemia, preeclampsia patients were associated with a higher rate of unfavorable neonatal outcomes.

Artigo 4 – Oral antioxidant therapy for prevention and treatment of preeclampsia: Meta-analysis of randomized controlled trials. - Nutr Metab Cardiovasc Dis. - 2018

Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases (2018) xx, 1–12



ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com

Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases

journal homepage: www.elsevier.com/locate/nmcd



SYSTEMATIC REVIEWS AND META-ANALYSES

Oral antioxidant therapy for prevention and treatment of preeclampsia: Meta-analysis of randomized controlled trials[☆]

M.B. Tenório^a, R.C. Ferreira^a, F.A. Moura^a, N.B. Bueno^a, M.O.F. Goulart^b,
A.C.M. Oliveira^{a,*}

^a Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas, Campus A. C. Simões, BR 104 Norte, Km 96,7, Tabuleiro dos Martins, CEP 57.072-970, Maceió, Alagoas, Brazil

^b Instituto de Química e Biotecnologia (IQB/UFAL), Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Universidade Federal de Alagoas, Campus A. C. Simões, BR 104 Norte, Km 96,7, Tabuleiro dos Martins, CEP 57.072-970, Maceió, Alagoas, Brazil

Received 30 January 2018; received in revised form 18 May 2018; accepted 4 June 2018

Handling Editor: A. Siani

Available online ■ ■ ■

KEYWORDS

Antioxidant;
Oral administration;
Pregnant women;
Preeclampsia

Abstract *Aims:* To determine whether oral antioxidant therapies, of various types and doses, are able to prevent or treat women with preeclampsia.

Data synthesis: The following databases were searched: MEDLINE, CENTRAL, LILACS, and Web of Science. Inclusion criteria were: a) randomized clinical trials; b) oral antioxidant supplementation; c) study in pregnant women; d) control group, treated or not with placebo. Papers were excluded if they evaluated antioxidant nutrient supplementation associated with other non-antioxidant therapies. Data were extracted and the risk of bias of each study was assessed. Heterogeneity was analyzed using the Cochran Q test, and I² statistics and pre-specified sensitivity analyses were performed. Meta-analyses were conducted on prevention and treatment studies, separately. The primary outcome was the incidence of preeclampsia in prevention trials, and of perinatal death in treatment trials. Twenty-nine studies were included in the analysis, 19 for prevention and 10 for treatment. The antioxidants used in these studies were vitamins C and E, selenium, L-arginine, allicin, lycopene and coenzyme Q10, none of which showed beneficial effects on the prevention of preeclampsia (RR: 0.89, CI 95%: [0.79–1.02], P = 0.09; I² = 39%, P = 0.04) and other outcomes. The antioxidants used in the treatment studies were vitamins C and E, N-acetylcysteine, L-arginine, and resveratrol. A beneficial effect was found in intrauterine growth restriction.





Conclusions: Antioxidant therapy had no effects in the prevention of preeclampsia but did show beneficial effects in intrauterine growth restriction, when used in the treatment of this condition.

© 2018 The Italian Society of Diabetology, the Italian Society for the Study of Atherosclerosis, the Italian Society of Human Nutrition, and the Department of Clinical Medicine and Surgery, Federico II University. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

Artigo 5 - Intake of antioxidants nutrients by pregnant womem: Associated factors. Rev. Nutr – 2018

Intake of antioxidants nutrients by pregnant womem: Associated factors

Ingestão de nutrientes antioxidantes por gestantes: fatores associados

Luiz Gonzaga Ribeiro SILVA NETO*  0000-0002-1003-9836
Marilene Brandão TENÓRIO*  0000-0002-7504-0491
Raphaella Costa FERREIRA*  0000-0002-1613-8819
Alane Cabral Menezes de OLIVEIRA*  0000-0002-7497-919X

ABSTRACT

Objective

To evaluate the intake of antioxidant nutrients by pregnant women being cared for in the Brazilian public health system and associated factors.

Methods

A cross-sectional study was carried out with pregnant women cared for in the public health system in the city of Maceió, Brazil, in 2014, including 385 pregnant women and their newborns, and the collection of maternal information (socioeconomic, personal, prenatal, dietary and anthropometric data), and after the babies' birth (gestational age, birth weight and length). Food intake was assessed by two 24-hour dietary reminders per pregnant woman with subsequent adjustments by the Estimated Average Requirement method. Data were processed and Pearson's correlation was used to evaluate associations, considering $p < 0.05$ as significant.

Results

A total of 388 pregnant women with a mean age of 24.06 ± 5.92 years were studied, with inadequate intake and high variation of the following antioxidants: vitamin A (83.2%/62.7%), vitamin C (50.5%/75.7%), vitamin E (76.5%/60.2%), Selenium (60.8%/50.3%), Copper (98.5%/42.8%) and Zinc (79.6%/43.4%), respectively.

* Universidade Federal de Alagoas, Faculdade de Nutrição, Setor de Nutrição Clínica. Campus A.C. Simões, BR 104 Norte, Km 96,7, Tabuleiro dos Martins, 57072-970, Maceió, AL, Brasil. *Correspondência para/Correspondence to:* ACM OLIVEIRA. E-mail: <alanecabral@gmail.com>

Support: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas (processo nº 60030 000818/ 2016).

Como citar este artigo/How to cite this article

Silva Neto LGR, Tenório MB, Ferreira RC, Oliveira ACM. Intake of antioxidants nutrients by pregnant womem: Associated factors. Rev Nutr. 2018;31(4):353-62. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-98652018000400001>



Artigo 6- Estado nutricional materno e sua associação com o peso ao nascer em gestações de alto risco. Ciênc. saúde coletiva [online]. 2018

Estado nutricional materno e sua associação com o peso ao nascer em gestações de alto risco

Maternal nutritional status and its association with birth weight in high-risk pregnancies

Alane Cabral Menezes de Oliveira¹
Lidiane Almeida Pereira¹
Raphaella Costa Ferreira¹
Ana Paula Grotti Clemente¹

Abstract *The clinical and nutritional status of pregnant women are important variables for birth-weight risk inadequacies. Thus, this study sought to evaluate the nutritional status of high-risk pregnant women and its association with birth weight of their offspring. It involved a cross-sectional study with high-risk pregnant women assisted at the university hospital of Maceio in the State of Alagoas and their newborns. The nutritional status of pregnant women and their offspring was evaluated according to body mass index for gestational age and birth weight, respectively. The association between maternal factors (comorbidities and nutritional status) and birth weight was assessed by the chi-square test and Pearson correlation, by adopting a confidence level of 95%. One hundred and forty-nine pregnant women were studied, 19.7% of whom were of normal weight; 32% were underweight; and 48.3% were overweight. Among newborns, 39.6% referred to as small for gestational age (SGA); 26.8% appropriate for gestational age (AGA) and 33.6% large for gestational age (LGA). LGA offspring were associated with overweight and the presence of metabolic comorbidities and SGA offspring were associated with insufficient gestational weight gain, whereby interventions are needed to reduce these outcomes.*

Key words *Pregnancy, High risk, Birth weight, Nutritional status*

Resumo *O estado clínico e o nutricional da gestante representam importantes variáveis para o risco de inadequações de peso ao nascer. Assim, o presente estudo visou avaliar o estado nutricional de gestantes de alto risco e sua associação com o peso ao nascer de seus conceptos. Estudo transversal com gestantes de alto risco assistidas no Hospital Universitário de Maceió-AL e seus recém-nascidos. O estado nutricional das gestantes e de seus conceptos foi avaliado segundo o Índice de Massa Corporal para a idade gestacional e o peso ao nascer, respectivamente. A associação entre fatores maternos (comorbidades e estado nutricional) e o peso ao nascer foram realizadas pelos testes de qui-quadrado e correlação de Pearson, adotando um nível de confiança de 95% ($\alpha = 0,05$). Foram estudadas 149 gestantes, com 19,7% delas com baixo peso; 32,0% eutróficas e 48,3% com excesso de peso. Entre os recém-nascidos, 39,6% eram pequenos para idade gestacional (PIG); 26,8% adequados para a idade gestacional (AIG) e 33,6% grandes para a idade gestacional (GIG). O excesso de peso gestacional e a presença de comorbidades metabólicas se associaram com o nascimento de recém-nascidos GIG e o ganho ponderal gestacional insuficiente com o nascimento de recém-nascidos PIG, sendo fundamentais intervenções para redução desses desfechos.*

Palavras-chave *Gravidez, Alto risco, Peso ao nascer, Estado nutricional*

¹ Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas. Av. Lórisval Melo Mota s/n, Tabuleiro dos Martins. 57072-970 Maceió AL Brasil. alaneCabral@gmail.com

Artigo 7 – Associated factors to non-use of antianemic supplementation by high risk pregnant women in Alagoas, Brazil - BRASPEN J 2018



Fatores associados à não utilização de suplemento antianêmico por gestantes de alto risco de Alagoas, Brasil

Associated factors to non-use of antianemic supplementation by high risk pregnant women in Alagoas, Brazil

Raphaela Costa Ferreira¹
Luiz Gonzaga Ribeiro Silva Neto²
Marilene Brandão Tenório²
Alane Cabral Menezes de Oliveira²

Unitermos:
Gravidez de Alto Risco. Suplementação Alimentar. Ferro. Estado Nutricional.

Keywords:
Pregnancy, High Risk. Supplementary Feeding. Iron. Nutritional Status.

Endereço para correspondência:
Alane Cabral Menezes de Oliveira
Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas. Campus A. C. Simões, BR 104 Norte, Km 96,7 – Tabuleiro dos Martins – Maceió, AL, Brasil – CEP: 57072-970.
E-mail: alanecabral@gmail.com

Submissão:
3 de outubro de 2017

Aceito para publicação:
20 de dezembro de 2017

RESUMO

Introdução: Apesar das estratégias e da implementação de guias e políticas para o combate à anemia carencial terem sido adotadas há bastante tempo, a sua prevalência no país vem se mantendo elevada, especialmente em grupos especiais, sendo esta carência considerada um problema de saúde pública. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a prevalência e os fatores associados à não utilização de suplemento antianêmico por gestantes de alto risco de Alagoas. **Método:** Estudo transversal, realizado com gestantes assistidas no hospital universitário de Maceió, sendo estudadas variáveis socioeconômicas, de estilo de vida, antropométricas, e investigado o uso de suplementação ferroso, com utilização da regressão de Poisson, e resultados expressos em razão de prevalência (RP) e intervalos de confiança (IC) de 95%. **Resultados:** Foram estudadas 210 gestantes na faixa etária de 13 a 43 anos de idade. O não uso de suplemento ferroso foi referido por 37,6% das mesmas, estando associado (gestantes que não utilizavam suplementação profilática versus gestantes que utilizavam suplementação profilática) ao baixo peso na gravidez, sendo, essa variável fator de proteção para esta condição (RP=0,47; IC de 95%= 0,24 a 0,93; p=0,030). **Conclusão:** A não utilização da suplementação antianêmica por parte de gestantes de alto risco de Alagoas é um problema de magnitude elevada, tornando evidente a necessidade de aumentar a cobertura da suplementação antianêmica entre elas.

ABSTRACT

Introduction: Although strategies and the implementation of guidelines and policies to combat deficiency anemia have been adopted for a long time, their prevalence in the country has remained high, and this deficiency is considered a public health problem. Thus, the objective of this study was to evaluate the prevalence and factors associated with the non-use of antianemic supplementation by high risk pregnant women in Alagoas. **Methods:** A cross-sectional study was carried out in a group of pregnant women assisted at a university hospital in Maceió. Socioeconomic, lifestyle, anthropometric variables were studied, and the use of ferrous supplementation with Poisson regression was investigated and results were expressed as prevalence (RP) and 95% confidence intervals (CI). **Results:** A total of 210 pregnant women were studied in the 13-43 age group. The non-use of a ferrous supplement was reported by 37.6% of the patients, being associated with low weight in pregnancy (pregnant women who did not use prophylactic supplementation versus pregnant women who used prophylactic supplementation), and this variable was a protective factor for this condition (PR = 0.47, 95% CI = 0.24 to 0.93, p=0.030). **Conclusion:** The non-use of antianemic supplementation by high-risk pregnant women in Alagoas is a problem of high magnitude, making evident the need to increase the coverage of anti-anemic supplementation among them.

CURRÍCULO LATTES



Raphaela Costa Ferreira Lemos

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/9998419660492565>

ID Lattes: **9998419660492565**

Última atualização do currículo em 19/02/2020

Graduada em Nutrição pela Universidade Federal de Alagoas. Faço parte do grupo de pesquisa em alimentação e nutrição nas enfermidades e co-morbidades cardiovasculares. Sou integrante do Laboratório NUTRICARDIO, Laboratório de eletroquímica, projeto Feijão com Arroz e Projeto ROSAS. Mestre em nutrição UFAL. Especialista em nutrição clínica e fitoterapia. Sou colaboradora no projeto DICA - BR/ Estudo multicêntrico HCOR. Integrante da ALNUT. Doutoranda ICBS - UFAL. Professora UNIT/AL dos cursos de nutrição (disciplinas: bromatologia, dietoterapia, nutrição no adolescente, dietoterapia infantil, semiologia nutricional) e enfermagem (nutrição e saúde) e UFAL. Professora de pós graduação de nutrição clínica. Leciona disciplinas na área de nutrição clínica (dietoterapia infantil, materno infantil, fisiopatologia e dietoterapia, nutrição no adolescente). **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome Raphaela Costa Ferreira Lemos

Nome em citações bibliográficas FERREIRA, R. C.; FERREIRA, RAPHAELA C.; Raphaela C Ferreira; FERREIRA, RAPHAELA COSTA; FERREIRA, R. C.; COSTA, RAPHAELA; COSTA FERREIRA, RAPHAELA; FERREIRA, RAPHAELA C

Lattes ID <http://lattes.cnpq.br/9998419660492565>

Endereço

Formação acadêmica/titulação

2017 Doutorado em andamento em Ciências da Saúde (Conceito CAPES 4).
Universidade Federal de Alagoas, UFAL, Brasil.
Orientador: MARÍLIA OLIVEIRA FONSECA GOULART.
Coorientador: ALANE CABRAL MENEZES DE OLIVEIRA.

2015 - 2017 Mestrado em Nutrição (Conceito CAPES 3).
Universidade Federal de Alagoas, UFAL, Brasil.
Título: CONSUMO DE ALIMENTOS PREDITORES E PROTETORES DE RISCO CARDIOVASCULAR DE HIPERTENSOS DO ESTADO DE ALAGOAS, Ano de
Obtenção: 2017.
Orientador: sandra mary lima vasconcelos.