



ANITA CRISTÓVÃO ROQUE

Licenciada em Análises Clínicas e Saúde Pública

Avaliação da Razão sFlt-1/PLGF como Indicador Clínico da Pré-Eclâmpsia

MESTRADO EM GENÉTICA MOLECULAR E BIOMEDICINA

Universidade NOVA de Lisboa
setembro, 2023

Avaliação da Razão sFlt-1/PLGF como indicador Clínico da Pré-Eclâmpsia

ANITA CRISTÓVÃO ROQUE

Licenciada em Análises Clínicas e Saúde Pública

Orientadora: Margarida Casal Ribeiro Castro Caldas Braga,
Professora Auxiliar, Universidade Nova de Lisboa

Júri:

Presidente: Doutor Pedro Manuel Brôa Costa,
Professor Auxiliar
NOVA School of Science & Technology | FCT NOVA

Arguentes: Doutora Maria João Monteiro dos Santos Ferreira da Silva
Professora Auxiliar,
Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa

Orientador: Margarida Casal Ribeiro Castro Caldas Braga
Professora Auxiliar,
NOVA School of Science & Technology | FCT NOVA

MESTRADO EM GENÉTICA MOLECULAR E BIOMEDICINA

Universidade NOVA de Lisboa
setembro, 2023

Avaliação da Razão sFlt-1/PLGF como Indicador Clínico da Pré-Eclâmpsia

Copyright © Anita Cristóvão Roque, NOVA School of Science & Technology, Universidade NOVA de Lisboa.

A NOVA School of Science & Technology e a Universidade NOVA de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Ao longo dos anos tenho aprendido a importância da gratidão para tudo o que nos ajuda a percorrer os trilhos da vida - sejam acontecimentos importantes ou pessoas que interferem no nosso caminho para nos fazer aprender e crescer, quer a nível pessoal quanto profissional.

Agradeço à minha orientadora, Margarida Castro Caldas Braga, Professora Auxiliar na Nova School of Science & Technology, pelo apoio, orientação e todas as sugestões feitas ao longo da elaboração deste Relatório de Atividade Profissional.

Estou grata à Nova School of Science & Technology por proporcionar-me a oportunidade de obter o Mestrado em Genética Molecular e Biomedicina.

Sou também grata à Assistente Eugénia Durão, da Roche Diagnostics e à Dra. M^a Luísa Martins, por todo o apoio prestado ao longo da elaboração do presente trabalho, bem como ao serviço de Patologia Clínica do polo Maternidade Dr. Alfredo da Costa, por me fornecerem toda a documentação necessária para a elaboração deste relatório.

Ao longo da realização deste trabalho, surgiram várias dificuldades que me fizeram duvidar do alcance do meu sucesso. Para contrariar essa tendência, pude contar com o apoio do meu marido, António Manuel, pela paciência e também pela resiliência em realizar todas as tarefas domésticas enquanto eu avançava e concluía o presente trabalho.

Por fim, um agradecimento especial aos meus amigos pelo seu apoio incondicional e principalmente aos meus colegas de trabalho, em especial Dora Pinto, Bernardo Baptista e Fernando Cruz, pela sua disponibilidade e esclarecimento de dúvidas.

Concluída a lista de agradecimentos, não posso deixar de mencionar os meus queridos bichanos, Pepe e Sasha, pela ternura e fonte constante de inspiração. Na verdade, foram eles quem mais me acompanharam nesta jornada solitária que é a elaboração de um relatório de atividade profissional

Resumo

O presente Relatório de Atividade Profissional foi elaborado com o objetivo de obtenção do Grau de Mestre em Genética Molecular e Biomedicina, pela *NOVA School of Science and Technology*, da Universidade Nova de Lisboa. Nele, é apresentada a trajetória profissional da autora como Técnica Superior de Análises Clínicas e Saúde Pública, com destaque para a sua atuação no polo Maternidade Dr. Alfredo da Costa, do Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central.

Sendo a Pré-Eclâmpsia (PE) a complicação mais frequente e imprevisível dos distúrbios hipertensivos na gestação, é crucial a implementação de testes capazes de prever se e quando ela se desenvolverá. O presente trabalho tem por objetivo enfatizar a relevância da razão entre a forma solúvel do «*fms-like tyrosine kinase receptor-1*» (sFlt-1) e o «*placental growth factor*» (PLGF), destacando as suas vantagens e desvantagens.

Este trabalho teve origem num estudo de revisão da literatura científica, no qual foram analisados e selecionados diversos conteúdos relevantes publicados nas bases de dados PubMed e Google académico. Com base nesse estudo, concluiu-se que a razão sFlt-1/PLGF possui um elevado valor preditivo negativo (VPN), permitindo descartar o desenvolvimento da PE em grávidas nos primeiros sete dias após o teste. Este fato conduz a uma redução significativa do impacto económico, pela diminuição do tempo e frequência de internamentos. O uso deste indicador auxilia ainda a previsão da PE bem como na antecipação de resultados adversos em gestantes com alto risco, possibilitando uma adequada intervenção clínica precoce. A utilização da razão também se justifica na diferenciação da PE de outras patologias, com sinais clínicos e laboratoriais sobreponíveis.

Palavras-chave: Técnica Superior de Análises Clínicas e de Saúde Pública, doenças hipertensivas na gestação, pré-eclâmpsia, razão sFlt-1/PLGF, diagnóstico laboratorial.

Abstract

This Professional Activity Report was prepared with the objective of obtaining a master's degree in molecular Genetics and Biomedicine, by NOVA School of Science and Technology, at Universidade Nova de Lisboa. It reflects the professional trajectory of the author as a Senior Technician in Clinical Analysis and Public Health with emphasis on her work at the Dr. Alfredo da Costa Maternity Hospital Center of the Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central.

As Pre-Eclampsia (PE) is the most frequent and unpredictable complication of hypertensive disorders during pregnancy, the implementation of tests capable of predicting if and when it will develop is crucial today. The aim of this study is to emphasize the relevance of determining the ratio between soluble factor tyrosine kinase-1 (sFlt-1) and placental growth factor (PLGF), as a predictive indicator of this condition, highlighting its advantages and disadvantages.

This work originated from a review of the scientific literature, in which various relevant contents published in the PubMed and Google Scholar databases were analyzed and selected. Based on this study, it was concluded that the sFlt-1/PLGF ratio has a high negative predictive value (NPV), making it possible to rule out the development of PE in pregnant women in the first seven days after the test. This leads to a significant reduction in economic impact by reducing the time and frequency of hospitalizations. The use of this indicator also helps to predict PE and anticipate adverse outcomes in high-risk pregnant women, enabling appropriate early clinical intervention. The use of the ratio is also justified in differentiating PE from other pathologies with similar clinical and laboratory signs.

Keywords: Senior Technician in Clinical Analysis and Public Health, hypertensive disorders in pregnancy, pre-eclampsia, sFlt-1/PLGF ratio, laboratory d

ÍNDICE

1	Introdução	1
2	Desenvolvimento académico e profissional	3
2.1	Formação Académica Base	3
2.2	Formação Profissional Complementar	3
2.3	Atividades Relevantes	3
2.4	Experiência Profissional	4
2.5	Enquadramento Histórico e Profissional	4
2.6	Atual Contextualização Profissional	6
2.6.1	Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central	6
2.6.2	Polo Maternidade Dr. Alfredo da Costa	6
2.6.3	Patologia Clínica do polo Maternidade Dr. Alfredo da Costa	7
3	Contextualização da Pré-Eclâmpsia	9
3.1	Tipos de Hipertensão na Gravidez	9
3.2	Pré-Eclâmpsia: Definição e Epidemiologia	10
3.3	Fisiopatologia da Pré-Eclâmpsia	11
3.3.1	Placentação normal na gravidez	11
3.3.2	Placentação anormal na Pré-Eclâmpsia – Fase I	13
3.3.3	Síndrome Materno - Fase II - Manifestações clínicas da Pré-Eclâmpsia	16
3.4	Possíveis Complicações da Pré-Eclâmpsia: Impacto na Saúde Materna e Fetal	20
3.5	Etiologia e Fatores de Risco para a Pré-Eclâmpsia	24
3.6	Perspetivas Futuras para Mães e Filhos com Histórico de Pré-Eclâmpsia	26
4	Diagnóstico da Pré-Eclâmpsia no Polo Maternidade Dr. Alfredo Da Costa	27
4.1	Protocolo clínico e Laboratorial da Pré-Eclâmpsia	27
4.2	Procedimentos Laboratoriais para o Desenvolvimento e Validação do Método que Determina a Razão sFlt-1/PLGF	29
4.2.1	Fase Pré-Analítica para a Determinação dos Parâmetros sFlt-1-/PLGF	30
4.2.2	Fase Analítica para a Determinação dos Parâmetros sFlt-1-/PLGF	31
4.2.2.1	Reagentes	33
4.2.2.2	Calibração	34
		IX

4.2.2.3	Controlo de qualidade	35
4.2.2.4	Descrição do método	38
5	Exploração da Razão sFlt-1/PLGF como Biomarcador	41
5.1	Razão sFlt-1/PLGF e Diagnóstico de Pré-Eclâmpsia - Sensibilidade e Especificidade Clínica	42
5.2	Razão sFlt-1/PLGF e Prognóstico de Pré-Eclâmpsia a curto prazo	43
5.3	Razão sFlt-1/PLGF e Previsão de Resultados Materno-Fetais Adversos	47
5.4	Razão sFlt-1/PLGF e Previsão do Tempo de Gestação até ao Parto	48
5.5	Razão sFlt-1/PLGF e os Vários Distúrbios Hipertensivos durante a Gravidez.....	49
5.6	Determinação da Razão sFlt-1/PLGF versus Determinação Isolada de sFlt-1 e PLGF..	49
5.7	Razão sFlt-1/PLGF e Gravidez Múltipla.....	50
5.8	Razão sFlt-1/PLGF e Predição de Restrição de Crescimento Fetal e Parto Prematuro .	51
6	Orientações para o Uso da Razão sFlt-1/PLGF no Diagnóstico e Monitorização da Pré-Eclâmpsia.....	53
6.1	Uso da razão sFlt-1/PLGF e Interpretação Clínica dos Resultados Obtidos.....	53
6.1.1	Abordagem Clínica em Grávidas Sem Características Clínicas Sugestivas de Pré-Eclâmpsia e Resultado de Razão sFlt-1/PLGF < 38	54
6.1.2	Abordagem Clínica em Grávidas com Características Clínicas Sugestivas de Pré-Eclâmpsia e Resultado de Razão sFlt-1/PLGF < 38	54
6.1.3	Abordagem Clínica em Grávidas Com Resultado de Razão sFlt-1/PLGF de 38-85 (< 34ª semana de gestação) e 38-110 (> 34ª semana de gestação)	55
6.1.4	Abordagem Clínica em Grávidas com Resultado de Razão sFlt-1/PLGF >85 (< 34ª semana de gestação) e > 110 (> 34ª semana de gestação)	56
6.1.5	Abordagem Clínica em Grávidas com Outras Patologias com Sinais Clínicos e Laboratoriais Sobreponíveis à Pré-Eclâmpsia	56
6.2	Atual Abordagem Clínica da razão sFlt-1/PLGF no Polo Maternidade Dr. Alfredo da Costa	58
7	Conclusão.....	61
	Referências Bibliográficas	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 - Maternidade Dr. Alfredo da Costa em 1932.	6
Figura 3.1 - Invasão trofoblástica, ao nível da decídua materna. Diferenças entre uma não gravidez, uma gravidez normal e a pré-eclâmpsia.....	14
Figura 3.2 - Papel do sFlt-1 e PLGF no desenvolvimento da PE.....	14
Figura 3.3 - Esquema exemplificativo e resumido da fisiopatologia da PE	20
Figura 3.4 - Esquema que resume os vários distúrbios hipertensivos associados à hipertensão.....	24
Figura 4.1 - Imagens referentes aos tubos da marca Sarstedt, com gel separador, utilizados para a determinação dos parâmetros sFlt-1 e PLGF no polo MAC.....	30
Figura 4.2 - Equipamento Cobas 6000 Analyzer Series.	31
Figura 4.3 - Unidade core unit 150 do equipamento Cobas® 6000 Analyzer Series.....	32
Figura 4.4 - Vista superior do módulo Cobas e 601	32
Figura 4.5 - Conjunto de imagens referentes aos dois packs de reagentes e a três reagentes auxiliares	33
Figura 4.6 - Imagens que ilustram ambos os calibradores para os parâmetros sFlt-1 e PLGF	35
Figura 4.7 - Imagem que ilustra os dois níveis de controlo de qualidade a serem efetuados para validar o desempenho analítico dos parâmetros sFlt-1/PLGF.....	36
Figura 4.8 - Exemplo de gráficos de Levey-Jennings, neste caso aplicados ao controlo de qualidade dos parâmetros analíticos sFlt-1 (os dois primeiros) e PLGF (os dois últimos gráficos) efetuado no período de 14/7 a 13/08 de 2023 e interpretados de acordo com as regras de Westgard..	37
Figura 4.9 - Resumo esquemático das regras de Westgard	38
Figura 4.10 - Princípio de sanduíche associado à eletroquimioluminescência (Diagnostics, 2021) ...	39
Figura 5.1 - Desempenho do valor de corte 38 da razão sFlt-1/PLGF na previsão da PE em uma semana e quatro semanas após a realização do teste.	45
Figura 6.1 - Esquema sugestivo que resulta da conclusão de diversos relatórios internacionais que tiveram como objetivo auxiliar na definição de um protocolo de orientação para o uso da razão sFlt-1/PLGF na prática clínica relacionada com o diagnóstico de grávidas suspeitas de PE...	58

Índice de tabelas

Tabela 3.1 - Fatores de risco para a Pré-Eclâmpsia, segundo NICE	25
Tabela 4.1 - Protocolo da Pré-Eclâmpsia aprovado pela administração do CHULC	27
Tabela 4.2 - Valores de corte de proteinúria para o diagnóstico de PE, consoante o tipo de amostra de urina/análise prescrita	28
Tabela 4.3 - Critérios de gravidade da pré-eclâmpsia	28
Tabela 4.4 - Descrição da constituição de os packs de reagentes sFlt-1 e PLGF e dos reagentes auxiliares; ProCell M, CleanCell M, PreClean M e ProbeWash M	34
Tabela 4.5 - Valores estabelecidos para o limite do branco, limite mínimo de deteção, limite de quantificação e limite máximo de deteção para os parâmetros sFlt-1 e PLGF	40
Tabela 5.1 - Validação de diversos valores de corte obtidos a partir da razão sFlt-1/PLGF, dependendo da fase gestacional inicial ou tardia	42
Tabela 5.2 - Validação de um ponto de corte de 38 para a razão sFlt-1/PLGF na previsão de pré-eclâmpsia em 1 semana	44
Tabela 5.3 - Validação de um ponto de corte de 38 para a razão sFlt-1/PLGF na previsão de pré-eclâmpsia em 2, 3 e 4 semanas	44
Tabela 5.4 - Desempenho da razão sFlt-1/PIGF, obtida a partir do estudo PROGNOSIS ASIA, com aplicação do valor de corte 38 para a previsão da pré-eclâmpsia a curto prazo..	46
Tabela 6.1 - Número de análises prescritas e efetuadas nos anos de 2022 e 2023, com data-limite de 19 de setembro em ambos os anos.	59
Tabela 6.2 - Valores de corte da razão sFlt-1/PLGF a aplicar para a exclusão e o diagnóstico de PE, de acordo com a semana gestacional decorrente.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÓNIMOS

ACOG - *American College of Obstetricians and Gynecologists*

ACSP - Análises Clínicas e Saúde Pública

ALT- Alanina aminotransferase

AST- Aspartato aminotransferase

CHLC, E.P.E – Centro Hospitalar de Lisboa Central, entidade pública empresarial

CHULC - Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central

CID - Coagulação intravascular disseminada

CQ - Controlo de qualidade

ECA - Enzima conversora da angiotensina

Eng - Endoglin

eNOS - Enzima sintetase do óxido nítrico

FIGO - Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia

FMF- The *fetal Medicine Foundation*

FullPIERS - *Preeclampsia Integrated Estimate of Risk*

HELLP - Síndrome que envolve hemólise, elevação das enzimas hepáticas e trombocitopenia

HEMA - Centro de estudos e tratamentos, LDA

HTA - Hipertensão arterial

IL-6 – Interleucina 6

ISSHP - *International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy*

LDH - Desidrogenase Láctica

MAC - Maternidade dr. Alfredo da Costa

MAP - Média da tensão arterial

mg/dL- Miligrama por decilitro

mg/g - Miligrama por grama

mmHg - Milímetro de mercúrio

NICE - *National Institute for Health and Care Excellence*

NO - Óxido nítrico

OMS - Organização Mundial da Saúde

PC - Patologia Clínica

PE - Pré-eclâmpsia

pg/mL – Picograma por mililitro

PLGF - *Placental growth factor*

PMA - Centro de Procriação Medicamente Assistida

RCF - Restrição de crescimento fetal

RN - Recém-nascido

SARS-CoV-2 - Grupo coronavírus que provoca síndrome respiratória aguda grave

SD - Desvio padrão
sEng - Endoglin solúvel
sFlt-1 – Forma solúvel do *fms-like tyrosine kinase receptor-1*
Sistema HLA - Sistema de antígenos leucocitários humanos
SNC - Sistema nervoso central
SNS - Sistema Nacional de Saúde
SRAA - Sistema renina-angiotensina-aldosterona
TDT – Técnico de Diagnóstico e Terapêutica
TGF- β_1 - Fator do crescimento transformador Beta-1
TGF- β - Fator do crescimento transformador Beta
TNF- α – Fator de necrose tumoral - alfa
TPA - Tripropilamina
TSACSP - Técnica Superior de Análises Clínicas e Saúde Pública
TSDT – Técnico Superior de Diagnóstico e Terapêutica
VEGF- *Vascular endothelial growth factor*
VIH - Vírus de Imunodeficiência Humana
VPN – Valor preditivo negativo
VPP – Valor preditivo positivo
X – Média

1 INTRODUÇÃO

A *NOVA School of Science and Technology* da Universidade Nova de Lisboa, disponibiliza um regulamento especial para a obtenção do Grau de Mestre para aqueles que possuem uma Licenciatura pré-Bolonha e tenham pelo menos cinco anos de experiência profissional. Assim, o presente Relatório de Atividade Profissional tem por objetivo a obtenção do Grau de Mestre em Genética Molecular e Biomedicina, seguindo as diretrizes destinadas aos licenciados pré-Bolonha que possuam uma formação idêntica à dos mestres atuais, sendo para tal necessário cumprir apenas com o estabelecido na alínea b), do número 1, do artigo 20.º do Decreto-Lei n.º 74/2006, de 24 de março.

Este Relatório de Atividade Profissional está estruturado em sete capítulos, sendo o primeiro destinado à descrição da minha formação académica de base e ao meu percurso profissional, com especial destaque para o contexto de carreira dos últimos cinco anos no meu atual local de trabalho; o serviço de Patologia Clínica (PC) do polo Maternidade Dr. Alfredo da Costa (MAC), atualmente centralizado no Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central (CHULC).

Sendo o meu local de trabalho uma Maternidade de referência, decidi abordar um tema do foro obstétrico, a Pré-Eclâmpsia (PE); uma síndrome multifatorial e multissistémica que ainda resulta em elevados índices de mortalidade e morbilidade materna e perinatal em todo o mundo. Devido à imprevisibilidade da doença, sobretudo no que respeita ao início das suas manifestações clínicas, têm sido desenvolvidos múltiplos estudos e ensaios que procuram determinar a melhor forma de antecipar ou prever o início da sua sintomatologia. Nos últimos anos, a descoberta dos biomarcadores angiogénicos sFlt-1 e PLGF, juntamente com a sua quantificação laboratorial, tem representado um avanço significativo na orientação clínica de mulheres com suspeita da doença em causa.

Os capítulos subsequentes deste trabalho têm por objetivo contextualizar a PE de modo a enquadrar a relevância da quantificação dos biomarcadores sFlt-1/PLGF. Após a descrição da metodologia utilizada no serviço de PC da MAC, serão discutidas as vantagens e desvantagens da quantificação dos biomarcadores mencionados, com base na revisão de artigos científicos publicados nos últimos cinco anos. Estes artigos também relatam como se posiciona a comunidade científica internacional perante o uso dos biomarcadores em contexto de PE.

2 DESENVOLVIMENTO ACADÉMICO E PROFISSIONAL

2.1 Formação Académica Base

Em 1993, a autora do presente trabalho ingressou na então Escola Técnica dos Serviços de Saúde de Lisboa, hoje denominada Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa. Em 1996 conclui o bacharelato em Análises Clínicas e Saúde Pública (ACSP), com nota final de curso de 16 valores. Anos mais tarde, em 2003, concluiu o 2º ciclo da Licenciatura Biotápica ACSP, mantendo a nota final de curso de 16 valores.

2.2 Formação Profissional Complementar

Face à constante evolução da ciência, e consequentemente da tecnologia e dos meios complementares de diagnóstico; assiste-se a uma necessidade imperiosa de atualização constante por parte dos profissionais de saúde. Durante os seus 27 anos de exercício profissional, a autora do presente trabalho teve a oportunidade de participar em inúmeros encontros, jornadas e congressos, bem como assistir, na qualidade de aluna, a diversos cursos de âmbito profissional, com e sem avaliação.

Também foi aluna de outros cursos certificados com avaliação, fora do âmbito profissional, embora com alguma pertinência profissional, como é o caso da conclusão do 7º nível de inglês ministrado no Instituto de Línguas *Oxford School*. Na sequência, candidatou-se ao exame Cambridge English, o antigo *First Certificate*, adquirindo a certificação *First – B₂*. Para além disso, também participou numa ação de formação, com avaliação, intitulada “*Introdução à Comunicação Multimédia*” com a duração total de 45 horas.

2.3 Atividades Relevantes

Ao longo do seu percurso profissional, a autora teve oportunidade de apresentar 21 pósteres de âmbito profissional, em autoria e coautoria, nos mais diversos congressos, jornadas e encontros a que assistiu. Recebeu inclusivamente um prémio de 2º melhor poster com o tema “*Rastreo da Diabetes gestacional na MAC*”.

Foi preletora numa ação de formação intitulada “*Estudo da Seropositividade VIH em Pediatria*”, que decorreu no anfiteatro da MAC.

Publicou em coautoria, na revista periódica “*Arquivos*” da MAC, um artigo científico com o tema “*Importância do Diagnóstico Laboratorial na Síndrome de HELLP*”.

Colaborou, juntamente com o Núcleo de Formação dos Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica da MAC, na organização de um curso teórico-prático com a duração de 37.5 horas, que viria a ser ministrado por si, com o apoio da *Ortho-Clinical Diagnostics Johnson&Johnson*, intitulado “*Utilização e Manutenção do Equipamento Vitros 250*”.

Para além de ter participado em diversos grupos de trabalho na natureza técnico/científica, colaborou na formação de médicos internos do Internato Complementar de PC, na área de Bioquímica da MAC.

Orientou e avaliou, durante quatro anos, diversos alunos de estágio do módulo de bioquímica do curso de Análises Clínicas e Saúde Pública.

2.4 Experiência Profissional

Em agosto de 1996, mal terminou o bacharelato em ACSP, iniciou o seu percurso profissional no serviço de PC do Hospital de Santa Marta, onde desenvolveu funções nas áreas de hematologia, bioquímica, microbiologia e urgência interna.

Três anos mais tarde, em 1999, por motivos contratuais, viu-se forçada a sair do local de trabalho anteriormente descrito para iniciar funções na Maternidade Dr. Alfredo da Costa. Neste local, encontra-se integrada até aos dias de hoje, inicialmente em regime “híbrido” de rotina e urgência, e atualmente apenas em horário de urgência nas áreas de bioquímica, hematologia, imunologia e endocrinologia. Pontualmente assegura, em horário de rotina, as colheitas de sangue venoso aos utentes internos e externos da MAC. Integrada nas equipas de urgência, é responsável pela manutenção dos mais diversos equipamentos disponíveis no serviço, efetuando as respetivas calibrações dos parâmetros analíticos com consequente controlo de qualidade dos mesmos.

Paralelamente ao trabalho desenvolvido na MAC, em 2000, também exerceu funções no laboratório de imunologia e imunohemoterapia no *Centro de Estudos e Tratamentos LDA (HEMA)*, para mais tarde ser integrada no departamento de bioquímica da Direção de Serviços de *Medicina Desportiva do Instituto Nacional do Desporto*.

2.5 Enquadramento Histórico e Profissional

A história da “carreira” de Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica (TDT) remonta há mais de um século, pela necessidade imperiosa do exercício profissional ao nível das tecnologias de saúde, junto dos hospitais de Lisboa, Porto e Coimbra. Ao longo dos anos, os cursos ministrados a partir da década de 60, permitiam o exercício profissional, mas não o grau académico, pelo que tal só acontece em 1993, ao abrigo do Decreto-lei nº 415/93, por ocasião da integração dos respetivos cursos no Sistema Nacional de Educação, ao nível do Instituto politécnico de Lisboa. A profissão adquire o grau de bacharel para uns anos mais tarde, em 1999/2000, possibilitar a evolução para as licenciaturas, com a duração de quatro anos. Foi o Decreto-lei 564/99 que reestruturou a carreira dos TDT, conferindo-lhes autonomia técnica e profissional, juntamente com uma escala salarial adequada à formação e ao desempenho profissional que exige crescente complexidade e responsabilidade. Esse decreto-lei define as áreas de intervenção do Técnico de Análises Clínicas e Saúde Pública ao nível da PC, imunologia, hematologia clínica, genética e saúde pública, através do estudo, aplicação e avaliação das técnicas e métodos analíticos próprios, para fins de rastreio e diagnóstico.

Em 2008, o ensino superior em Portugal, tal como noutros países europeus, sofreu uma profunda reestruturação com o *Processo de Bolonha*, resultando na extinção do grau de Bacharel. A

maioria das licenciaturas foi reduzida para três anos. No entanto, devido à natureza exigente das áreas de saúde, as Tecnologias da Saúde mantiveram os cursos de quatro anos.

Após a extinção da carreira do TDT em 2017, é criada a profissão de Técnico Superior de Análises Clínicas e Saúde Pública (TSDT), que se insere na carreira especial de Técnico Superior de Diagnóstico e Terapêutica, de acordo com o Decreto-Lei n.º 111/2017 de 31 de agosto. Este decreto define a carreira especial dos técnicos superiores das áreas de diagnóstico e terapêutica, estabelecendo uma relação jurídica de emprego público. De acordo com o artigo 9 do Decreto-lei nº 111/2017 (capítulo II), o conteúdo profissional do TSDT compreende:

a) Conceber, planear e recolher os meios e prestar os serviços e cuidados de saúde necessários à prevenção da doença, à manutenção, defesa e promoção da saúde e do bem-estar e qualidade de vida do indivíduo e da comunidade;

b) Assegurar, através de métodos e técnicas apropriadas, o diagnóstico, o tratamento e reabilitação do doente, procurando obter a participação esclarecida deste no seu processo de prevenção, cura e reabilitação;

c) Preparar e esclarecer o doente ou o utente para a execução dos exames ou intervenção, assegurando a sua vigilância durante os mesmos, bem como no decurso do respetivo processo de diagnóstico, tratamento, reabilitação, por forma a garantir a eficácia e efetividade daqueles;

d) Aceder aos dados clínicos e outros relativos aos utentes que lhe forem confiados, necessários ao correto exercício das suas funções, com sujeição ao sigilo profissional;

e) Desenvolver métodos de trabalho com vista à melhor utilização dos meios, promovendo a circulação de informação, bem como a qualidade e a eficiência dos serviços, designadamente, colaborar em atividades de formação e de desenvolvimento profissional contínuo dos profissionais em exercício de funções;

f) Conceber, planear, recolher, registar e efetuar o tratamento e análise de informação relativa ao exercício das suas funções, incluindo a que caracteriza o nível de produção, atividade ou qualidade da equipa em que está integrado, e a que seja relevante para os sistemas de informação institucionais na área da saúde;

g) Participar e promover ações que visem articular as diferentes redes e níveis de serviços e/ou cuidados de saúde;

h) Assegurar o aprovisionamento e manutenção dos materiais e equipamentos com que trabalha, participando no planeamento das necessidades e integrando as respetivas comissões de análise e escolha;

i) Integrar júris de concursos, dentro da sua área de atividade;

j) Colaborar no processo de desenvolvimento de competências de estudantes do ensino superior das áreas profissionais respetivas.

Atualmente, a profissão é formalmente estabelecida e sujeita a regulamentação legal, sendo a *Administração Central do Sistema de Saúde* a responsável por emitir a cédula profissional de Técnico Superior de Análises Clínicas e Saúde Pública (TSACSP), documento este essencial para o desempenho das suas atividades profissionais.

2.6 Atual Contextualização Profissional

2.6.1 Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central

O Centro Hospitalar Lisboa Central, EPE (CHLC) foi criado em 28 de fevereiro de 2007, por meio do Decreto-lei 50-A/ 2007, que definiu que nele se centrariam o Hospital de S. José, o Hospital de Santo António dos Capuchos, o Hospital de Santa Marta e o de D. Estefânia. Posteriormente, o Decreto-Lei nº 44/2012, datado de 23 de fevereiro, procedeu à extinção e fusão no respetivo Centro, o Hospital de Curry Cabral e a Maternidade Dr. Alfredo da Costa.

Anos mais tarde, com base no Decreto-Lei nº 61/2018, sucede ao CHLC, o Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central (CHULC). O atual Centro hospitalar oferece três serviços de urgência à população: a urgência polivalente no Hospital S. José, a urgência pediátrica no Hospital D. Estefânia e a urgência obstétrica e ginecológica na MAC.

Os seis hospitais do CHULC mantém uma participação ativa na formação de futuros profissionais de saúde, estabelecendo diversos protocolos com institutos universitários na área de Lisboa.

Para os próximos anos, está prevista a construção do novo Hospital de Lisboa Oriental, que substituirá as seis unidades espalhadas pelo centro da cidade de Lisboa.

2.6.2 Polo Maternidade Dr. Alfredo da Costa

A MAC foi inaugurada em 31 de maio de 1932, como uma justa homenagem à vida e à obra do Dr. Alfredo da Costa, que lutou incansavelmente pela sua criação. Ela abriu as portas ao público em 5 de dezembro de 1932 (fig. 2.1).



Figura 2.1 - Maternidade Dr. Alfredo da Costa em 1932 (F. A. and Aurélio, 2015).

Atualmente integrada no âmbito do CHULC, a MAC é uma instituição hospitalar especializada nos processos que envolvem o planeamento, a gravidez, o parto e o período pós-parto. A instituição contempla igualmente um serviço de cuidados intensivos de neonatologia que abrange cerca de 20% dos recém-nascidos (RN) em Portugal, com menos de 32 semanas de gestação.

Além da valência obstétrica, ginecológica e neonatal, a MAC disponibiliza soluções para mulheres com dificuldades em engravidar por meio do *Centro de Procriação Medicamente Assistida* (PMA). O fato deste centro pertencer ao *Sistema Nacional de Saúde* (SNS), contribui para melhorar a acessibilidade dos utentes e casais a estes tipos de tratamentos.

Desde a sua abertura até ao final de 2022, a Mac já realizou mais de 605 mil partos, mantendo atualmente uma média anual de 3000 partos. Outro dado curioso a apontar é que, de acordo com uma reportagem do Jornal Público datada de 16 de dezembro de 2022, atualmente, um em cada três bebés é filho de mãe estrangeira. Com efeito, os efeitos da globalização, a acessibilidade e gratuidade do SNS em Portugal, têm incentivado cada vez mais jovens casais a escolherem este país para residirem e terem os seus filhos. Em novembro de 2022, a percentagem de partos realizados a mães estrangeiras era de cerca 32%, com a nacionalidade brasileira em primeiro lugar, seguida das nepalesas, bangladeshianas e angolanas. Além destas nacionalidades, também se verifica um aumento gradual de mães oriundas de Guiné-Bissau, São Tomé e Príncipe, Cabo Verde, Índia e Paquistão. Conclui-se, portanto que, além de outras eventuais conclusões, este fato contribui significativamente para o aumento da natalidade em Portugal, contrariando a tendência progressiva do envelhecimento da população no país.

2.6.3 Patologia Clínica do polo Maternidade Dr. Alfredo da Costa

O serviço de PC tem por objetivo integrar e valorizar o contexto clínico-laboratorial dos utentes, através duma correta interpretação dos resultados obtidos, contribuindo deste modo para a prevenção, diagnóstico, monitorização, prognóstico e tratamento de várias patologias.

Todos os diferentes polos do CHULC possuem um serviço PC, o qual atua em estreita colaboração com a avaliação clínica, de modo a fornecer dados que validem diagnósticos e monitorizem a evolução de doenças e respetivas terapêuticas. Atendendo a que no CHULC existem três urgências externas em operação contínua, 24 horas por dia, a necessidade do serviço de PC nesses locais é ininterrupta. É o caso da MAC, cujas valências estão direcionadas para os parâmetros analíticos que se relacionam com a obstetrícia, ginecologia, neonatologia e o Centro de Procriação Medicamente Assistida (maioritariamente parâmetros hormonais). Nesse contexto, as análises mais efetuadas contemplam as áreas de Hematologia, Bioquímica e Endocrinologia. As amostras relativas aos restantes pedidos são maioritariamente processadas no Hospital de São José. Já o serviço de Microbiologia encontra-se centralizada no Hospital Dona Estefânia, sendo o transporte de todas as amostras assegurado por um serviço externo contratado para o efeito, 24 horas por dia.

A autora do presente trabalho encontra-se inserida na equipa de urgência do serviço em questão, partilhando com os colegas de equipa a responsabilidade pela manutenção, calibração e controlo de qualidade dos mais diversos equipamentos disponíveis no laboratório. Para além disso,

colabora nas colheitas de sangue venoso aos utentes, sejam adultos ou recém-nascidos, provenientes do ambulatório, internamento e serviço de urgência.

Uma vez que todo o serviço de PC do centro hospitalar se encontra em estreita comunicação entre si, existe uma área de triagem em cada polo que garante o encaminhamento adequado das amostras para o respetivo laboratório, contribuindo desta forma para o sucesso da fase pré-analítica.

De acordo com o programa informático disponível no laboratório, *Clinidata II*, no ano de 2022, o laboratório da MAC integrou cerca de 73 mil prescrições médicas, envolvendo um total de 27 mil utentes. A média diária de prescrições integradas ronda as 200, sendo na sua maioria proveniente de consultas, seguida pelo internamento e serviço de urgência. O serviço conta ainda com uma equipa multidisciplinar constituída por patologistas clínicos, TSACSP, assistentes técnicos e assistentes operacionais.

3 Contextualização da Pré-Eclâmpsia

A hipertensão arterial (HTA) é uma patologia que surge frequentemente durante a gravidez e afeta cerca de 10-15 % de todas as gestações (Medjedovic et al., 2023) e constitui uma importante causa mundial de morbidade grave, prematuridade, restrição de crescimento fetal (RCF) e mortalidade materna e perinatal (Khedagi and Bello, 2021).

O *American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG) e o *International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy* (ISSHP), têm contribuído amplamente para o estudo, classificação e definição da HTA na gravidez. Esta é diagnosticada quando a tensão arterial sistólica é igual ou superior a 140 mmHg e/ou a tensão arterial diastólica é igual ou superior a 90 mmHg, ambas verificadas em duas ou mais medições efetuadas em ocasiões diferentes, com pelo menos quatro horas de diferença. Foram ainda definidos critérios para a HTA grave, quando as medições em causa são superiores ou iguais a 160 mmHg e 110 mmHg, respetivamente. Nestes casos, para que não haja atrasos na assistência médica, a confirmação deverá ser efetuada apenas com 15 minutos de diferença (Danielli et al., 2022; Khedagi and Bello, 2021).

3.1 Tipos de Hipertensão na Gravidez

O ISSHP desenvolveu um sistema de classificação abrangente para a HTA na gravidez com o objetivo de auxiliar no diagnóstico e fornecer orientações clínicas adequadas ao tratamento para cada tipo de HTA. Este sistema de classificação inclui quatro tipos de hipertensão na gravidez:

- **Hipertensão crónica** - Representa cerca de 1-5% de todas as gestações e é diagnosticada previamente à gravidez, ou antes da 20^a semana de gestação. Por se tratar duma patologia pré-existente à gravidez, requer desde o início uma vigilância médica cuidadosamente direcionada, pelo risco acrescido de desenvolver complicações graves e potencialmente fatais para a mãe e/ou bebé, como é o caso da PE, Eclâmpsia ou síndrome de Hemólise, Enzimas Hepáticas Elevadas e Trombocitopenia - (HELLP), entre outros (Facca et al., 2012; Khedagi and Bello, 2021).

- **Hipertensão gestacional** – Entre os distúrbios hipertensivos que ocorrem durante a gravidez, este é o mais comum. Geralmente não apresenta proteinúria significativa (Burton et al., 2019) e tende a evoluir favoravelmente, com os sintomas a desaparecerem entre 6-12 semanas após o parto. Embora seja mais frequente após a 37^a semana de gestação, cerca de um quarto das mulheres; particularmente aquelas que revelaram o aumento tensional antes da 34^a semana de gestação, podem desenvolver PE. Após o puerpério, cerca de 10% das mulheres podem manter-se hipertensas; pelo que neste caso ela será reclassificada com HTA crónica (Facca et al., 2012; Khedagi and Bello, 2021).

- **Pré-Eclâmpsia** - É uma forma de HTA gestacional à qual, por norma, se associa um aumento de proteínas na urina. Ocorre após a 20^a semana de gestação e representa globalmente cerca de 5 a 8% de todas as gravidezes (Khedagi and Bello, 2021). É uma patologia potencialmente mais grave, multissistémica, que exige monitorização clínica e internamento hospitalar. Por esse motivo, devido à natureza ameaçadora das manifestações clínicas, a utilização dos termos “PE grave” e “PE leve” não são atualmente recomendados pelos especialistas, uma vez que a síndrome por si só, representa um

potencial clínico ameaçador, não devendo por isso ser descurado nas suas manifestações mais “leves” (Burton et al., 2019).

A PE será o foco central do presente trabalho, pelo que será desenvolvida detalhadamente já de seguida.

- **Pré-Eclâmpsia sobreposta a HTA crónica** - Globalmente, cerca de 10 a 30% das gestações em mulheres com HTA crónica desenvolvem PE. Nestas situações, verifica-se o aparecimento de proteinúria “de novo” ou o agravamento da já existente. A existência de determinados fatores de risco adicionais como a obesidade, o tabaco, história anterior de PE ou outras patologias pré-existentes que envolvam disfunções orgânicas, potenciam fortemente esta sobreposição. Porém, o diagnóstico nem sempre é fácil de distinguir do agravamento da HTA crónica, sobretudo nos casos em que a proteinúria não é muito expressiva. Essa distinção é sobretudo feita pelo aparecimento de critérios de gravidade, alguns dos quais confirmados pela utilização de meios de diagnóstico laboratorial que indiciam por exemplo, trombocitopenia e/ou a elevação súbita das transaminases (Khedagi and Bello, 2021; Lacerda et al., 2022).

3.2 Pré-Eclâmpsia: Definição e Epidemiologia

De acordo com a ISSHP, o atual conceito de PE inclui a deteção da tensão arterial (TA), em mulheres a partir da 20ª semana de gestação, superiores ou iguais a 140/90 mmHg, em pelo menos duas medições, com intervalos iguais ou superiores a quatro horas. A esta HTA associa-se a presença de proteinúria, sendo esta um dos principais critérios de diagnóstico diferencial entre a PE e outros distúrbios hipertensivos na gravidez (Stepan et al., 2023). No entanto, o diagnóstico da primeira condição não requer necessariamente a deteção de níveis elevados de proteinúria (Facca et al., 2012). Com efeito, nos casos em que a proteinúria não está presente, o diagnóstico da PE é efetuado pela presença de, pelo menos, um *critério de gravidade*, dos quais se salienta o agravamento da HTA e/ou RCF e/ou o comprometimento de órgãos-alvo (pulmões, sistema nervoso central, fígado, rim ou hemostasia) (Khedagi and Bello, 2021; Lacerda et al., 2022).

As manifestações clínicas da doença ocorrem durante o 2º e 3º trimestre de gravidez e, de acordo com o ACOG, a PE pode ser classificada como sendo de início precoce, quando os seus sintomas se iniciam antes das 34 semanas de gestação ou de início tardio, quando tal acontece após as 34 semanas (Stepan et al., 2023). Esta classificação é sobretudo importante em termos preditivos, uma vez que a PE de início precoce, por norma, está associada a maiores índices de morbilidade e mortalidade materna-perinatal (Danielli et al., 2022; Verlohren et al., 2022). Com efeito, presume-se que a fisiopatologia da PE de início precoce se desenrole inicialmente, na fase de placentação, de modo mais anormal e pronunciado, o que conduz à previsão de possíveis complicações maternas e neonatais, com eventuais desfechos graves como a eclâmpsia, HELLP, RCF, descolamento prematuro da placenta ou até morte materna e/ou perinatal (Overton et al., 2022; Stepan et al., 2023). Por outro lado, a PE de início tardio, está associada a cerca de 80% dos casos de PE (Gathiram and Moodley, 2020), e é hoje mais comumente aceite que se encontra relacionada com a senescência da placenta e uma certa predisposição genética para doenças metabólicas, cardiovasculares e outros fatores adicionais, como a obesidade e outras doenças crónicas pré-existentes, como a diabetes (Burton et al.,

2019). Conclui-se, portanto, que a severidade da PE varia de acordo com a idade gestacional e a presença de critérios de gravidade, sendo que a detecção precoce e o tratamento atempado e adequado a cada caso, são fundamentais para a redução da morbidade e mortalidade associada (Burton et al., 2019). Segundo um relatório recente, os casos de PE de início precoce e todas as suas complicações mais severas, representam cerca de 0,3-0,8% de todas as gestações no mundo (Costa et al., 2022).

Diversos estudos demonstram que a prevalência da PE varia consoante a localização geográfica e os grupos étnicos, podendo chegar aos 14% em alguns países em desenvolvimento, como determinadas zonas da África Subsaariana, América latina, Ásia e Caraíbas (Facca et al., 2012; Ohkuchi et al., 2021; Overton et al., 2022). De salientar que a prevalência da PE pode variar amplamente dentro duma mesma zona geográfica, razão pela qual se explica pela escassez de recursos em assistência médica, pelas condições socioeconómicas da população e o acesso aos cuidados de saúde. Face ao exposto, verificam-se elevados índices de morbidade e mortalidade associada à doença, que poderiam ser evitados se a mesma se desenrolasse em países desenvolvidos (Burton et al., 2019). Por outro lado, a etnia das populações também parece influenciar a prevalência e a mortalidade associada aos distúrbios hipertensivos. Este fato resulta de uma complexa combinação de fatores, incluindo as já mencionadas diferenças socioeconómicas, variações genéticas e adaptações evolutivas perante diferentes ambientes e pressões seletivas (Khedagi and Bello, 2021).

Quanto aos países desenvolvidos, existem evidências de que a incidência da PE esteja a aumentar (Khedagi and Bello, 2021), sobretudo devido a uma combinação de fatores como o aumento da idade materna (> 40 anos), história familiar, obesidade e doenças crónicas previamente existentes, como a HTA e a diabetes. Por outro lado, a melhoria das condições de saúde em muitos países tem proporcionado o aumento do diagnóstico precoce da PE, contribuindo estatisticamente para o aumento da sua incidência (Medjedovic et al., 2023).

De acordo com a *Organização Mundial da Saúde* (OMS), a PE e as suas complicações, ainda são responsáveis por aproximadamente 70.000 mortes maternas em todo o mundo e cerca de 500.000 mortes fetais e neonatais (Brown et al., 2018; Burton et al., 2019).

3.3 Fisiopatologia da Pré-Eclâmpsia

Os mecanismos que envolvem a fisiopatologia da PE ainda não se encontram completamente esclarecidos, embora muito já se saiba acerca do assunto. É consensual que a formação da placenta desempenha um papel primordial na origem dos eventos que conduzem ao desenrolar da PE (Rana et al., 2019; Stepan et al., 2016; Verlohren et al., 2022).

3.3.1 Placentação normal na gravidez

A gravidez é um processo dinâmico no qual se verifica uma constante adaptação metabólica que inclui o aumento do débito cardíaco e do volume plasmático, juntamente com uma redução concomitante da resistência vascular sistémica. A vasodilatação significativa da vasculatura periférica começa perto da 5ª semana de gestação, parcialmente causada pelo aumento dos níveis de estrogénio e progesterona. Estas alterações hormonais contribuem, no final do 1º trimestre, para a diminuição

significativa da resistência vascular sistêmica e da TA, com o aumento em 50% do fluxo renal e das taxas de filtração glomerular. Para manter a TA adequada, ocorrem adaptações hemodinâmicas maternas adicionais, das quais se salienta a ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), que neutraliza a perda de água e de sal conduzindo ao aumento da frequência cardíaca e do débito cardíaco (Khedagi and Bello, 2021).

Numa gravidez normal, 6 a 10 dias após a fecundação, a forma inicial do embrião (blastocisto) prepara-se para aderir à parede do útero para dar início à formação da placenta. O trofoblasto, que é a camada externa do blastocisto, diferenciar-se-á em citotrofoblasto, trofoblasto intermediário e sinciotrofoblasto. O citotrofoblasto é a camada mais interna do trofoblasto e possui alta atividade mitótica, sendo responsável pela rápida proliferação do sinciotrofoblasto e formação das vilosidades coriônicas (Matsubara et al., 2021). O sinciotrofoblasto, juntamente com o trofoblasto intermediário ou extraviloso, invadem o tecido endometrial para formar as vilosidades coriônicas, que penetram em profundidade as artérias espiraladas da decídua uterina, substituindo as células musculares lisas em vasos de alta capacidade e baixa resistência, garantindo desta forma o fornecimento adequado de sangue e nutrientes para o embrião em desenvolvimento (Matsubara et al., 2021). Logo após a implantação, o sinciotrofoblasto sintetizará a hormona gonadotrofina coriônica humana e a progesterona; ambas fundamentais para o desenvolvimento e manutenção da gravidez (Pankiewicz and Issat, 2023).

Podemos considerar o embrião em desenvolvimento, uma espécie de “transplante semi-alógeno”, um exemplo imunológico de uma reação induzida, tolerada com sucesso pelo sistema imunitário da mãe, uma vez que, por exemplo, é a placenta (e não o embrião) que se encontra em contacto direto com o sangue da mãe e como tal, produz fatores imunossupressores que ajudam a reduzir uma eventual resposta imunológica da mãe contra o embrião (Matsubara et al., 2021; Oliveira et al., 2010).

A necessária troca de nutrientes, oxigénio e resíduos de excreção entre a mãe e o embrião em desenvolvimento é garantida através da placenta e dos novos vasos sanguíneos que vão sendo produzidos a partir dos já existentes, num processo que se chama angiogénese. Para que este processo ocorra de forma adequada e controlada, na fase da implantação os trofoblastos começam a produzir fatores angiogénicos, tais como o fator de crescimento placentário (PLGF, do inglês: PLacental Endotelial Growth Factor) e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF, do inglês: Vascular Endotelial Growth Factor) (Oliveira et al., 2010). Após a implantação, a placenta assume a produção destas proteínas angiogénicas e, de modo a controlar a angiogénese e manter os níveis de PLGF e VEGF adequados ao desenvolvimento embrionário/fetal, produz uma forma antagonista aos dois fatores angiogénicos, caracterizada por ser uma forma solúvel do «*fms-like tyrosine kinase receptor-1*» (sFlt-1). Esta proteína, por ser solúvel, pode circular no sangue e interagir com outras proteínas, como o VEGF e o PLGF, reduzindo a biodisponibilidade destes, de modo a manter a angiogénese controlada (Oliveira et al., 2010; Pankiewicz and Issat, 2023).

Na gravidez normal, o fator pró-angiogénico PLGF aumenta consideravelmente durante os dois primeiros trimestres e diminui à medida que a gravidez chega ao seu termo. Por outro lado, os níveis

do fator anti-angiogénico, sFlt-1, mantêm-se estáveis durante a fase inicial e intermédia da gestação e aumentam de forma constante até ao termo da gravidez (Diagnostics, 2022a, 2022b).

3.3.2 Placentação anormal na Pré-Eclâmpsia – Fase I

Na fisiopatologia da PE, para uma melhor compreensão de todo o processo, podemos identificar duas fases distintas que ocorrem em momentos diferentes da gravidez; uma que ocorre logo no início e que caracteriza uma série de eventos fisiopatológicos primários – *Placentação anormal (Fase I)*, e outra que representa o culminar da progressão desses eventos com eventuais manifestações clínicas potencialmente severas, a que designamos por *Síndrome Materno (Fase II)* (Narkhede and Karnad, 2021; Pankiewicz and Issat, 2023).

Atualmente, ainda não se encontra totalmente desvendado o mecanismo fisiopatológico inicial que conduz à PE, mas é certo que tal se deve a mecanismos imunológicos (Oliveira et al., 2010). Pensa-se que na fase da implantação, ocorre uma quebra imunológica da tolerância materna, face à placenta/feto em desenvolvimento, cuja metade da sua carga genética pertence ao progenitor paterno. Alguns estudos sugerem que alterações nos genes do sistema HLA (do inglês, Human Leukocyte Antigen) possam estar envolvidos no desenvolvimento da patologia, na medida em que podem reconhecer inadequadamente os antígenos fetais, levando à ativação do sistema imunológico materno com o envolvimento dos macrófagos, linfócitos T e células Natural Killer. Essa ativação pode desencadear uma resposta imunológica específica contra a placenta e contribuir para uma sucessão de eventos inflamatórios primários que podem desencadear a PE (Matsubara et al., 2021; Oliveira et al., 2010).

Outra teoria em desenvolvimento passa pela presença dos exosomas, que são pequenas vesículas libertadas pelas células placentárias e que contém entre outros elementos, micro-RNA, que em contacto com o sistema imunitário da mãe, podem desencadear uma resposta imunológica com libertação de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina-6 (IL-6), e espécies reativas de oxigénio (Matsubara et al., 2021).

Em qualquer das teorias em estudo, esta quebra de tolerância materna parece interferir com as funções do trofoblasto extraviloso, que acaba por não invadir adequadamente o terço interno da parede uterina, promovendo uma deficiente remodelação das artérias espiraladas, as quais vão manter algumas das suas características primárias, como a elevada resistência vascular sistémica (Matsubara et al., 2021; Qu and khalil, 2020) (fig. 3.1). Esta diminuição da perfusão uteroplacentária induz à isquemia, com consequente má oxigenação e hipoxia placentária, pelo que a partir daí desencadeiam-se uma cascata de eventos que conduzem à libertação excessiva de diversas substâncias anti-angiogénicas que vão comprometer todo o processo natural da angiogénese, processo esse, fundamental para o desenvolvimento saudável da placenta (Jung et al., 2022; Oliveira et al., 2010).

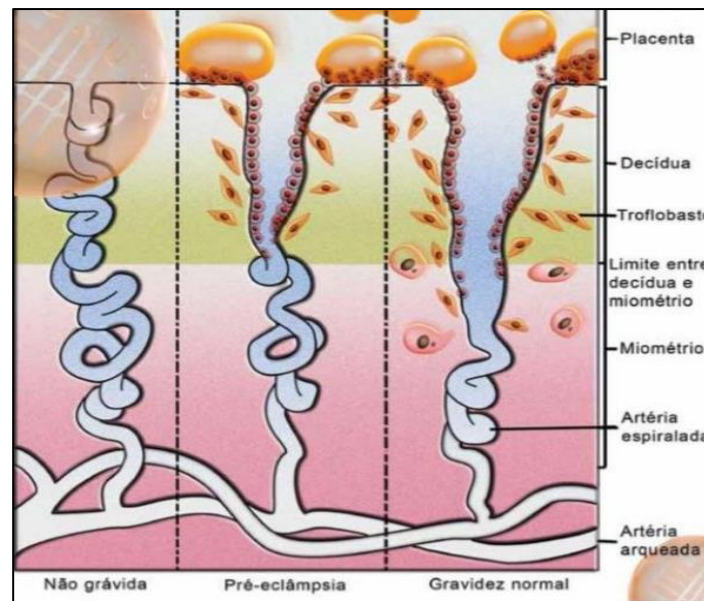


Figura 3.1 - Invasão trofoblástica, ao nível da decídua materna. Diferenças entre uma não gravidez, uma gravidez normal e a pré-eclâmpsia - Na pré-eclâmpsia, o trofoblasto extraviloso não invade a decídua em profundidade, promovendo a deficiente remodelação das artérias espiraladas. Em resultado, estas vão manter algumas das suas características primárias, como o aumento da resistência vascular (Ferreira, 2010). Uma dessas substâncias anti-angiogénicas é o sFlt-1 que, em circulação e em excesso, se vai ligar indiscriminadamente ao PLGF e ao VEGF, inibindo-os de se ligarem aos seus receptores naturais e impedindo-os de concretizar a sua função angiogénica (Oliveira et al., 2010; Stepan et al., 2023).

Este desequilíbrio na PE resulta em níveis mais elevados de sFlt-1 e níveis mais baixos de PLGF, quando comparados com os verificados numa gravidez normal (Diagnostics, 2022a), o que favorece a redução da vasodilatação e o aumento da vasoconstrição, com consequente inflamação sistémica e progressão da disfunção endotelial (fig. 3.2).

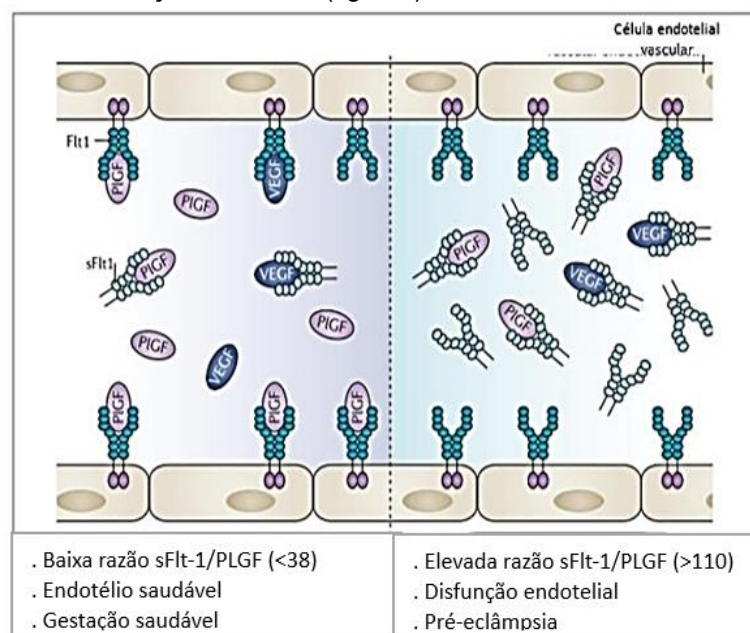


Figura 3.2 - Papel do sFlt-1 e PLGF no desenvolvimento da PE- Em mulheres grávidas, o sFlt-1 liga-se ao PLGF e ao VEGF em circulação, inibindo-os de se ligarem aos seus recetores naturais. Uma elevada razão sFlt-1/PLGF favorece a disfunção endotelial e consequentemente o desenvolvimento da PE (Stepan et al., 2020).

Outra glicoproteína importante na angiogénese é a endoglina (Eng), que se encontra maioritariamente localizada à superfície das células endoteliais dos vasos sanguíneos da placenta. É considerada um biomarcador que atua como coreceptor do fator de crescimento transformador beta-1 (TGF- β_1), desempenhando ambos um papel crucial na regulação da formação e da maturação dos vasos sanguíneos (Rossi and Bernabeu, 2023). O TGF- β_1 é uma isoforma da superfamília do fator de crescimento transformador beta (TGF- β), família esta responsável pela regulação fisiológica de uma série de processos celulares, dos quais se destaca a angiogénese. Nas situações de hipoxia placentária, verifica-se um aumento dos níveis circulatórios de uma proteína antagonista da função da Eng, denominada endoglina solúvel (sEng). Esta proteína surge para competir com a Eng de membrana, impedindo a ligação do TGF- β_1 aos seus receptores naturais localizados nas células endoteliais. Ao inibir a função natural do TGF- β_1 , fica comprometido o estímulo da enzima sintetase do óxido nítrico endotelial (eNOS), que se localiza nas células endoteliais. Este facto, em consonância com a disfunção endotelial, contribui para a diminuição da produção de óxido nítrico (NO), um potente vasodilatador essencial na redução da resistência vascular associada a uma gravidez saudável (Rana et al., 2022).

Pensa-se que a excessiva produção do sFlt-1 desempenhe uma função pró-inflamatória para além da sua ação sobre o PLGF e VEGF, na medida em que também parece induzir a produção de moléculas de adesão e citocinas inflamatórias, como o TNF- α e a IL-6 (Jung et al., 2022). As moléculas de adesão promovem a aderência e migração de células inflamatórias, como os leucócitos, para o tecido inflamado, promovendo progressivamente a disfunção endotelial e stress oxidativo (Matsubara et al., 2021; Walle et al., 2022). A libertação destas células e a ativação das prostaglandinas, contribuem para o aumento da permeabilidade vascular, com extravasamento de líquido e proteínas para o espaço intersticial, aumentando o volume plasmático (edema) com consequente diminuição do fluxo sanguíneo e eventual hemoconcentração (Medjedovic et al., 2023). A ação de algumas destas células pode desempenhar, em condições normais, papéis importantes em processos como a regulação do fluxo sanguíneo, a coagulação, a inflamação e a reparação tecidual. No entanto, em condições de disfunção endotelial, a emissão de sinais químicos desregulados com consequente comprometimento celular, pode contribuir para a fisiopatologia de doenças cardiovasculares e outras condições inflamatórias (Pankiewicz and Issat, 2023).

A disfunção endotelial também provoca alterações ao nível da coagulação sanguínea. Essas alterações, que incluem a ativação das plaquetas, o aumento de diversos fatores da coagulação e a diminuição de proteínas anticoagulantes, como a proteína S e a antitrombina III, vão contribuir para a formação de pequenos trombos e agravar a diminuição do fluxo sanguíneo uteroplacentário (Pankiewicz and Issat, 2023).

Ao mesmo tempo que esses eventos fisiopatológicos ocorrem, verifica-se uma fase de adaptação materna à nova condição de gravidez, na qual a placenta, apesar de estar a desenvolver-se de forma anormal, continua a fornecer oxigénio e nutrientes ao feto em desenvolvimento. Esta adaptação é acompanhada por um aumento da produção de radicais livres, que pode ser considerado como um mecanismo adaptativo para proteger o feto em desenvolvimento. No entanto, a produção excessiva de radicais livres, que são moléculas instáveis e reativas, ultrapassa a capacidade interna

do metabolismo em eliminá-los, provocando stress oxidativo (Walle et al., 2022). Este promove danos celulares em proteínas, lípidos e ácidos nucleicos, intensificando a inflamação e a disfunção endotelial (Oliveira et al., 2010; Verlohren et al., 2022).

O endotélio é uma camada de células que reveste o interior dos vasos sanguíneos e desempenha funções na regulação do fluxo sanguíneo, na integridade vascular e na coagulação. À medida que a gestação progride, as suas células, já afetadas pela disfunção endotelial, vão produzindo gradualmente fatores pró-inflamatórios e moléculas de adesão. Estas moléculas contribuem para a aderência dos leucócitos e das plaquetas nas paredes dos vasos sanguíneos. Simultaneamente, observa-se um aumento da produção de algumas substâncias vasoconstritoras como o tromboxano, endotelina-1 e a angiotensina II, que agravam a vasoconstrição e interferem na biodisponibilidade do óxido nítrico e das prostaciclinas, importantes mediadores da vasodilatação e da manutenção da integridade vascular (Ives et al., 2020; Qu and khalil, 2020).

3.3.3 Síndrome Materno - Fase II - Manifestações clínicas da Pré-Eclâmpsia

A síndrome materna da PE ocorre geralmente após as 20 semanas de gestação e engloba as manifestações clínicas da doença, representando o resultado final de uma sequência de eventos fisiopatológicos que se iniciaram na fase de placentação (Oliveira et al., 2010). Nesse contexto, quanto mais pronunciada a disfunção placentária no início da gravidez, presumivelmente mais grave podem ser as manifestações clínicas (Burton et al., 2019).

A maioria das grávidas com PE são inicialmente assintomáticas, sendo diagnosticadas com HTA e proteinúria durante uma consulta pré-natal de rotina. O início das manifestações clínicas é geralmente insidioso e manifesta-se por sintomas como edema, “algo considerado normal” durante a gravidez (Narkhede and Karnad, 2021). Porém, ocasionalmente surgem quadros emergentes de grávidas nos serviços de urgência, com convulsões, RCF grave ou descolamento prematuro da placenta, o que torna a PE uma condição imprevisível e temerosa (Costa et al., 2022).

Face ao aumento da permeabilidade vascular e aos eventos fisiopatológicos já mencionados, foram criadas as condições ideais para a formação de pequenos coágulos que obstruem o fluxo sanguíneo, já de si deficiente (Burton et al., 2019). Simultaneamente, ocorre uma redução na produção de fatores fibrinolíticos, o que impede a dissolução desses coágulos, sendo os fragmentos resultantes de fibrina depositados em diversos órgãos-alvo, ao nível das células que os constituem, nomeadamente o fígado, os rins, o coração, o cérebro e obviamente, a placenta (Burton et al., 2019).

É importante ressaltar que, embora o feto se possa desenvolver abaixo do esperado devido à placentação deficiente, nem todas as grávidas evoluem para a PE. Mesmo entre aquelas que desenvolvem PE, nem todas apresentam as mesmas alterações fisiopatológicas em graus semelhantes, pois entram em consideração fatores importantes, como o estado de saúde geral da grávida; a presença de outras condições médicas subjacentes que afetam a função vascular (por exemplo: a obesidade), a existência de outras patologias pré-existentes (hipertensão arterial, diabetes, doenças renais e autoimunes), fatores genéticos e ambientais, bem como a implementação de medidas preventivas para quem já apresenta risco de desenvolver PE (por exemplo, a toma de ácido acetilsalicílico em baixas dosagens) (Ives et al., 2020; NICE guideline, 2019).

De acordo com o mencionado, na base da maioria dos sintomas está a vasoconstrição, a diminuição do fluxo sanguíneo e a disfunção endotelial, com consequente edema e formação de pequenos coágulos de sangue nos tecidos e órgãos (Oliveira et al., 2010; Verlohren et al., 2022).

De acordo com o órgão atingido, os sintomas podem variar de acordo com a sua natureza e intensidade. Face a este contexto, a fim de compreender as consequências clínicas de PE, torna-se relevante desenvolver um pouco as interações entre a disfunção endotelial e os sistemas orgânicos.

a) Sistema Cardiovascular e Hipertensão arterial

A disfunção endotelial desempenha um papel significativo ao desencadear uma série de eventos que afetam diretamente o sistema cardiovascular. Estudos recentes estabeleceram uma associação entre a disfunção endotelial e o aumento da atividade do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), principalmente em casos de PE de início precoce (Gathiram and Moodley, 2020). Durante a gravidez, a renina, predominantemente produzida pelos rins, desempenha um papel importante na conversão do angiotensinogénio em angiotensina I. A ação da enzima conversora de angiotensina (ECA) presente no endotélio vascular pulmonar, converte a angiotensina I em angiotensina II. Sendo a angiotensina II um vasoconstritor potente, o seu aumento associado à diminuição da produção de óxido nítrico (NO), intensifica a vasoconstrição, contribuindo deste modo para o aumento da resistência vascular periférica e, por conseguinte, da TA (Verlohren et al., 2022).

A angiotensina II também desempenha um papel na secreção de aldosterona, que normalmente regula a reabsorção de sódio e água pelos rins de modo a manter um adequado volume plasmático e TA (Gathiram and Moodley, 2020). Contudo, na PE, a produção excessiva de aldosterona leva a uma maior reabsorção desses elementos, resultando numa expansão adicional do volume plasmático e retenção de líquidos. Esses fatores, em conjunto com a maior permeabilidade vascular e a inflamação, sobrecarregam o sistema cardiovascular, agravando ainda mais a TA. A disfunção renal, frequentemente presente na PE, também contribui para esse cenário ao agravar a retenção de sódio, potássio e água no organismo (Ives et al., 2020).

Face ao exposto, a HTA e o possível comprometimento cardiovascular desempenham um papel crucial no desenvolvimento de sintomas e evidências clínicas, tais como a dor no peito, dispneia, insuficiência cardíaca, disfunção renal, arritmias e, em casos extremos, o enfarte agudo do miocárdio (Ives et al., 2020).

b) Sistema Pulmonar

Além das implicações no sistema cardiovascular, o comprometimento cardiovascular e a HTA estão intimamente relacionados com alterações a nível pulmonar. O aumento da resistência pulmonar e a diminuição do débito cardíaco, favorecem a insuficiência cardíaca, que por sua vez pode conduzir à insuficiência respiratória. Em alguns casos, isso pode levar até mesmo à acumulação de líquidos nos pulmões resultando em edema pulmonar (Oliveira et al., 2010). Na verdade, na PE, a função pulmonar pode ser afetada de diversas formas, nomeadamente no risco de complicações respiratórias para o bebé, como a síndrome do desconforto respiratório, onde os pulmões do bebé têm dificuldades em produzir surfactante suficiente para manter os alvéolos abertos (Qu and khalil, 2020).

c) Sistema Renal

Os rins, sendo um dos órgãos mais afetados pela PE, desempenham um papel crucial na complexa rede de consequências (Ives et al., 2020). A relação entre disfunção endotelial e o comprometimento renal resulta numa diminuição na perfusão renal e da taxa de filtração glomerular. Isso é explicado, em parte, pela redução nos fatores de crescimento endotelial vascular, que são fundamentais para a função e integridade dos glomérulos renais. A diminuição do VEGF pode, deste modo, levar a danos endoteliais nos podócitos e, por conseguinte, promover a lesão endotelial glomerular (Facca et al., 2012).

Para além disso, observam-se alterações histopatológicas, tais como o espessamento da membrana basal glomerular e a deposição de fragmentos de fibrina nas paredes dos glomérulos (Facca et al., 2012). Os túbulos renais também sofrem alterações, levando à redução na capacidade de reabsorção de água e eletrólitos. Nesse contexto observa-se um desequilíbrio hídrico e eletrolítico, que é potenciado pela maior permeabilidade glomerular, culminando na perda acentuada de proteínas na urina. Estes efeitos, podem ser atribuídos tanto à lesão endotelial quanto aos efeitos de moléculas como o sFlt-1, PLGF, VEGF e sEng (Facca et al., 2012).

Estas complexas interações têm como resultado a manifestação de sintomas distintos e a alteração de indicadores laboratoriais específicos como a proteinúria, aumento dos níveis séricos da creatinina, diminuição da taxa de filtração glomerular, HTA, edema, dor abdominal e alterações urinárias, como a oligúria e anúria (Ives et al., 2020)

d) Sistema Hepático

O fígado também é um órgão que pode ser fortemente afetado pela PE (Ives et al., 2020). Pelos motivos mencionados anteriormente, é possível observar-se, a nível dos hepatócitos, a presença de fibrina e agregação plaquetária, que podem obstruir a circulação sanguínea, favorecendo o aparecimento de doenças hepáticas, tais como lesão parenquimatosa hepática, necrose hepática isquémica, esteatose hepática, colestase intra-hepática da gravidez e síndrome de HELLP (Pollo-Flores et al., 2015). A epigastralgia é um sintoma muito frequente e potencialmente grave associada à lesão hepática e à sua inflamação. Em situações mais graves, pode mesmo evoluir para rutura hepática e hematoma hepático (Pollo-Flores et al., 2015). A fosfatase alcalina e as transaminases, a alanina aminotransferase (ALT) e a aspartato aminotransferase (AST), são enzimas que se encontram maioritariamente dentro do hepatócito. Quando existem evidências de comprometimento hepático, estas enzimas são libertadas para a corrente sanguínea, aumentando os seus níveis séricos (Pollo-Flores et al., 2015).

A desidrogenase láctica (LDH), é outra enzima presente em diversos órgãos e células, nomeadamente no fígado, coração, rins, músculos e eritrócitos (Pollo-Flores et al., 2015). Quando existe lesão nas respetivas células ou hemólise dos eritrócitos, liberta-se o seu conteúdo celular, nomeadamente a LDH, o que contribui para o aumento dos seus níveis séricos (Narkhede and Karnad, 2021).

e) Sistema Nervoso Central

Com base em toda a sua fisiopatologia, a PE também pode afetar o sistema nervoso central (SNC), provocando dores de cabeça graves e persistentes, distúrbios visuais como escotomas, visão turva, manchas cintilantes, edema cerebral, acidente vascular cerebral, convulsões e outros danos neurológicos (Oliveira et al., 2010).

f) Sistema hemostático

Conforme mencionado anteriormente, na PE ocorrem uma série de eventos que comprometem a hemóstase e o seu equilíbrio dinâmico. No cerne do problema está a disfunção endotelial e o desequilíbrio entre a produção de substâncias pro-coagulantes, anticoagulantes e fibrinolíticas, que em conjunto promovem a ativação da cascata da coagulação, resultando no aparecimento de pequenos coágulos sanguíneos nos diversos órgãos, que afetam a microcirculação e conduzem ao aumento da permeabilidade vascular e à formação de edemas (Walle et al., 2022). Por outro lado, com as plaquetas ativadas, verifica-se a produção excessiva de tromboxano A2, um poderoso constritor que estimula a agregação plaquetária (Walle et al., 2022). Nas complicações da PE, é comum o fibrinogénio (proteína produzida pelo fígado) apresentar-se em níveis séricos reduzidos, resultado da sua excessiva conversão em fibrina. Este fato aumenta as probabilidades de hemorragia, sobretudo na fase intraparto e pós-parto, podendo rapidamente evoluir para uma complicação designada por coagulação intravascular disseminada (CID) (Narkhede and Karnad, 2021). A lesão endotelial e a ativação da cascata de coagulação podem levar a que pequenos trombos circulem pelo sistema sanguíneo, forçando a sua passagem pelos pequenos e médios vasos, deformando os eritrócitos (esquizócitos) ou destruindo-os totalmente, provocando hemólise, visível laboratorialmente pelos níveis de hemoglobina (anemia), aumento de LDH e bilirrubina total (Narkhede and Karnad, 2021). Com esta sucessão de eventos, assiste-se a um potencial ciclo vicioso entre lesão endotelial/ trombose/ hemorragia, em que as plaquetas têm um papel ativo, quer pela diminuição da sua produção como pelo seu excessivo consumo na agregação plaquetária, necessária para a formação dos coágulos (Walle et al., 2022).

A figura que se segue resume (fig. 3.3), muito sucintamente, toda a fisiopatologia da PE, desde a fase da placentação até às suas manifestações clínicas, com eventuais comprometimentos de sistemas e órgãos.

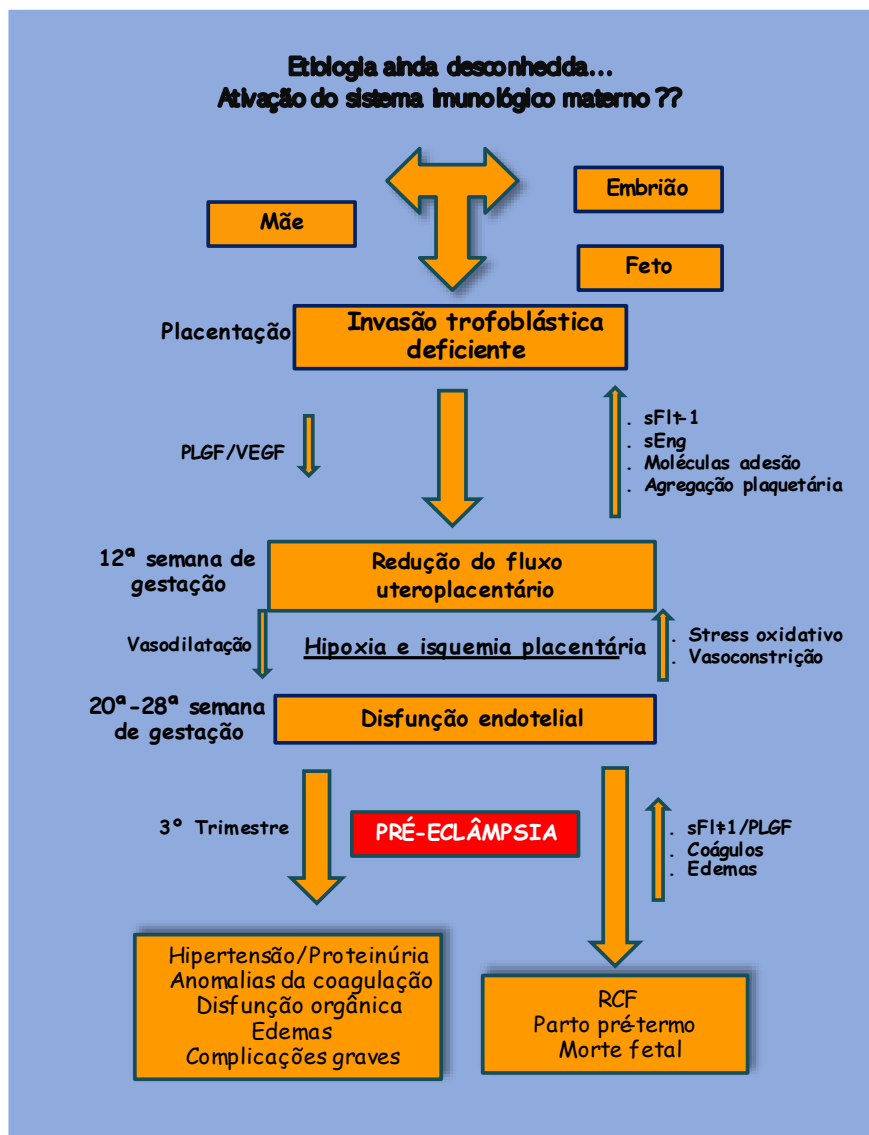


Figura 3.3 - Esquema exemplificativo e resumido da fisiopatologia da PE, cuja descrição se encontra acima da figura (Burton et al., 2019)

3.4 Possíveis Complicações da Pré-Eclâmpsia: Impacto na Saúde Materna e Fetal

No contexto duma gravidez, as complicações mais frequentes da PE, incluem a eclâmpsia e a síndrome de HELLP. Estas condições médicas são preocupantes e potencialmente fatais, exigindo atenção médica imediata. A prevalência destas complicações varia consoante as condições socioculturais e económicas das populações, bem como com a facilidade de acesso aos cuidados de saúde materno-infantil (Kumar et al., 2023). Além disso, a disponibilidade de equipamento adequado nos serviços de saúde, a composição da equipa multidisciplinar responsável pelo acompanhamento de gestantes e recém-nascidos, o diagnóstico precoce e a rapidez no tratamento adequado, emergem como fatores determinantes no desenrolar das complicações relacionadas com a PE. Ainda assim, face

a este contexto, os efeitos adversos da PE estão fortemente condicionados pelo tempo de gestação e pela presença de critérios de gravidade (Lacerda et al., 2022).

➤ **Eclâmpsia**

A eclâmpsia é uma complicação neurológica grave, normalmente acompanhada de PA extremamente elevada. Caracteriza-se pelo aparecimento de uma crise convulsiva tônica-clônica, focal ou multifocal, que se sobrepõem ao quadro clínico da PE (Fishel Bartal and Sibai, 2022), estimando-se que afete cerca de 1,9% de todos os casos de PE e 3,2% das situações de PE com critérios de gravidade (Lacerda et al., 2022).

Não se sabe exatamente por que ocorrem as convulsões, mas acredita-se que a disfunção do endotélio vascular, quando localizada no SNC e associada ao quadro de edema, HTA e inflamação, provoque danos cerebrais que se manifestam inicialmente por dores de cabeça, edema e distúrbios visuais, podendo rapidamente evoluir para episódios convulsivos (Overton et al., 2022).

O tratamento para estas situações passa pela administração de sulfato de magnésio como profilaxia das convulsões, terapia hipertensora, administração de oxigênio, fluídos e corticosteroides destinados a completar o ciclo de maturação pulmonar do feto, caso a idade gestacional seja < 35ª semana de gestação. As terapias de suporte vital são essenciais para suportar eventuais falências orgânicas, bem como a vigilância fetal e uma equipa de neonatologia preparada e equipada para receber o RN e prestar-lhe a assistência médica necessária. (Lacerda et al., 2022; Pollo-Flores et al., 2015).

➤ **Síndrome de HELLP**

Estima-se que cerca de 10 a 20% dos casos graves de PE possam evoluir para a Síndrome de HELLP, uma das complicações mais graves dessa condição, cujas taxas de mortalidade materna e perinatal podem atingir 1.5-5% dos casos e 10-60%, respetivamente (Pollo-Flores et al., 2015). Esta sigla representa: H de Hemólise, uma vez que é acompanhada de destruição dos eritrócitos (anemia hemolítica microangiopática; EL do inglês, Elevated liver enzymes (aumento dos enzimas hepáticos LDH; AST e ALT); LP do inglês Low platelets count (diminuição da contagem do número de plaquetas para valores <100/ml) (Oliveira et al., 2010).

Caracteriza-se por uma síndrome multifatorial, que raramente ocorre antes da 27ª semana de gestação, manifestando-se em 30% das vezes, já na fase do puerpério (Overton et al., 2022; Pollo-Flores et al., 2015).

Atualmente, a etiologia do HELLP ainda não se encontra completamente esclarecida. Sendo uma complicação da PE, esta condição surge devido à progressão da fisiopatologia da doença, com grave acometimento de diversos órgãos, principalmente o fígado, e pela presença de pequenos coágulos que afetam o fluxo sanguíneo e provocam danos a nível do hepatócito, com libertação das enzimas ALT e AST (Oliveira et al., 2010). A aderência plaquetária ao endotélio vascular e a destruição dos eritrócitos devido à hemólise microangiopática contribuem para achados laboratoriais em esfregaços sanguíneos como a presença de anemia (com deformação dos eritrócitos – esquizócitos), e trombocitopenia, ambos confirmados através do hemograma (Pollo-Flores et al., 2015).

Além do aumento dos parâmetros bioquímicos já mencionados, o doseamento do ácido úrico também é útil para monitorizar o estágio de evolução da síndrome de HELLP; dado que este é um dos últimos parâmetros a aumentar na consequência do comprometimento renal (Narkhede and Karnad, 2021). Outro marcador importante é o doseamento da haptoglobina, uma proteína de fase aguda produzida essencialmente pelo fígado, que tem a função de se ligar irreversivelmente à hemoglobina circulante a fim de conservar o ferro e prevenir possíveis lesões nos túbulos renais (Danielli et al., 2022).

Os sintomas mais comuns da síndrome de HELLP são semelhantes aos da PE, uma vez que ambas as condições estão interligadas. No entanto, a presença de náuseas; vômitos e dor intensa e persistente no quadrante superior direito do abdômem, pode ser sugestiva de lesão hepática, confirmada por meio de análises laboratoriais (Pollo-Flores et al., 2015). Nestas situações, o tratamento para a condição também é idêntico ao da PE, com destaque para o fato de se tratar de uma situação emergente e portanto, a decisão de recorrer para o parto iatrogénico é imperativo, logo após a estabilização materna.

➤ **Outras complicações da Pré-eclâmpsia, com destaque para a coagulação intravascular disseminada**

Para além da eclâmpsia e da síndrome de HELLP, existem outras complicações maternas que podem advir da PE, da eclâmpsia ou da síndrome de HELLP. A maioria já foi “aflorada” anteriormente, como a CID, síndrome de desconforto respiratório agudo, disfunção renal e hepática; edema pulmonar, embolia pulmonar, problemas visuais (cegueira cortical, por exemplo), disfunção cardiovascular (HTA crónica, acidente vascular cerebral, edema cerebral, entre outros), risco de hemorragia e descolamento prematuro da placenta, danos neurológicos transitórios ou permanentes, acidente vascular cerebral, paragem cardiorrespiratória, enfarte, falência orgânica, entre outros (Kumar et al., 2023; Stepan et al., 2023; Verlohren et al., 2022)

Destas diversas possíveis complicações, importa desenvolver um pouco a CID, pelo vasto comprometimento orgânico resultante do desenvolvimento da fisiopatologia da PE e da síndrome de HELLP.

A CID é uma complicação grave que pode resultar do agravamento da PE e da síndrome de HELLP, mas não é exclusiva da gravidez.

A sua fisiopatologia envolve a ativação generalizada da cascata da coagulação, resultando na obstrução do fluxo sanguíneo devido à formação de pequenos coágulos sanguíneos por todo o corpo (Narkhede and Karnad, 2021). Acredita-se que a ativação da cascata de coagulação seja resultado da libertação de substâncias inflamatórias na circulação materna, como as citocinas inflamatórias e de outros fatores intrínsecos aos processos da coagulação (Jung et al., 2022; Matsubara et al., 2021).

A ativação excessiva do sistema de coagulação, resulta no consumo de vários fatores de coagulação, incluindo o fibrinogénio, fatores II, V, VIII e X e plaquetas (Narkhede and Karnad, 2021). À medida que os fatores de coagulação são consumidos, o tempo de protrombina e o tempo de tromboplastina parcial ativada prolongam-se. Além disso, a fibrinólise (processo de degradação da fibrina) pode ser ativada, resultando em níveis elevados de produtos de degradação de fibrina, como o D-dímero, na circulação sanguínea (Narkhede and Karnad, 2021). Outros sinais e sintomas da CID

incluem trombose, hemorragia espontânea ou prolongada, insuficiência e eventual falência de múltiplos órgãos, anemia, icterícia, diminuição do volume urinário e dor abdominal (Pollo-Flores et al., 2015).

O tratamento para a CID passa inicialmente pelo controlo da hemorragia, sendo por norma necessárias várias transfusões de sangue, plasma e crioprecipitados, assim como a eventual administração de ácido tranexâmico para inibir a degradação excessiva dos coágulos sanguíneos (em pequenos coágulos por todo o corpo), sulfato de magnésio para a prevenção da eclâmpsia e terapias de suporte vital para suportar eventuais falências orgânicas, entre outros cuidados (Pollo-Flores et al., 2015).

Importa destacar que a eclâmpsia, HELLP e CID são situações graves e potencialmente fatais que podem requerer um parto prematuro iatrogénico para atenuar as consequências destas complicações e preservar a vida da mãe e do feto. No entanto, o parto só deve ser ponderado após a prévia estabilização materna, recorrendo, entre outras medidas, à administração intravenosa de sulfato de magnésio e ao controlo da TA, como profilaxia contra as convulsões (Lacerda et al., 2022). Para além da condição materna é essencial considerar o bem-estar fetal através da ultrassonografia obstétrica completa e da cardiotocografia (CTG). Nos exames de rotina e, sobretudo, após confirmada a PE, deve ser implementada uma constante vigilância para monitorizar, por exemplo, a possível RCF decorrente da alteração do fluxo sanguíneo da artéria umbilical (Brown et al., 2018).

➤ **Impacto neonatal resultante da pré-eclâmpsia**

Vários estudos indicam que as consequências mais graves para o feto resultam dos casos de PE com início precoce, nos quais se verifica uma disfunção placentária resultante da diminuição na perfusão uteroplacentária. Como resultado, o feto não se desenvolve de acordo com o seu potencial de crescimento determinado geneticamente, assistindo-se à sua RCF (Kumar et al., 2023). Esta aumenta o risco de morbilidade e mortalidade fetal, assim como condiciona a saúde a longo prazo, já na idade adulta. Além da RCF e da morte fetal, a prematuridade também pode acarretar graves consequências a curto, médio e longo prazo, sobretudo pela ausência da maturação pulmonar, que impede a produção adequada de surfactante para manter os alvéolos pulmonares abertos e deste modo facilitar as trocas de oxigénio e dióxido de carbono (Ives et al., 2020; Verlohren et al., 2022). Para além da insuficiência respiratória, muitas outras complicações podem resultar da extrema prematuridade neonatal. A maioria está relacionada com a imaturidade de sistemas e órgãos que comprometem o normal funcionamento dos mesmos, colocando em risco a vida e a saúde a longo prazo do pequeno ser humano.

O gráfico seguinte resume e esquematiza as diferenças que, por norma, diferenciam os vários distúrbios hipertensivos associados à gravidez (fig. 3.4):

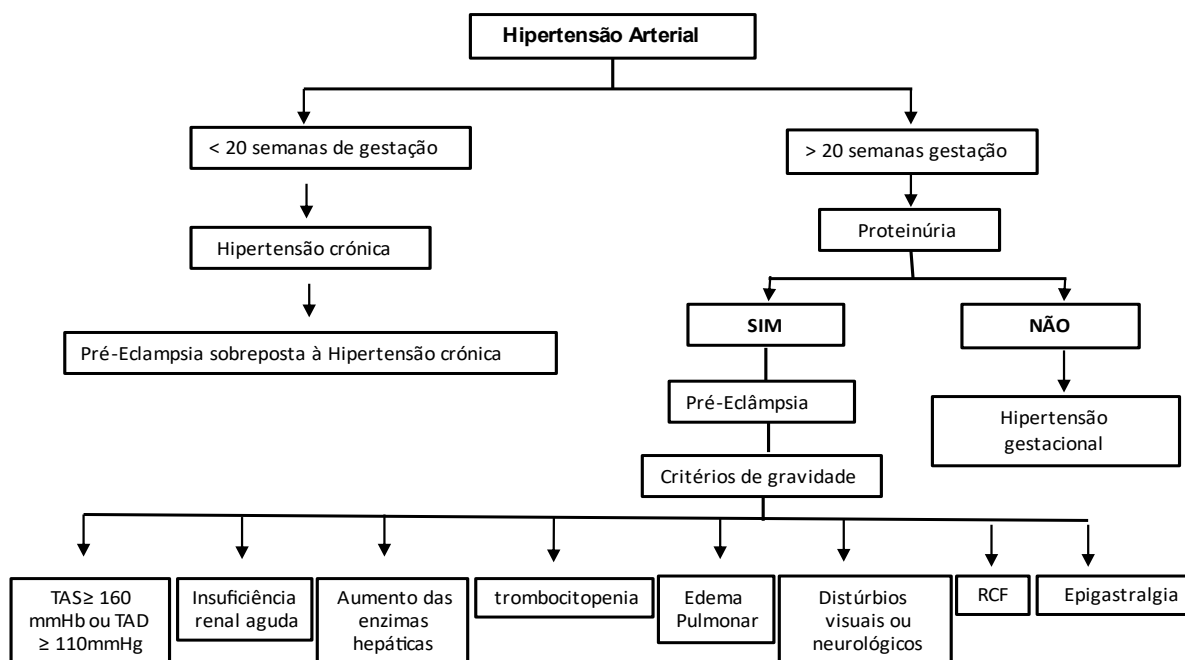


Figura 3.4 - Esquema que resume os vários distúrbios hipertensivos associados à hipertensão. Os critérios de gravidade mencionados podem manifestar-se de forma isolada, ou já estarem relacionados com o desenvolvimento de complicações, como a síndrome de HELLP. A imprevisibilidade e variabilidade destas evidências clínicas dificultam frequentemente o diagnóstico dos vários distúrbios hipertensivos na gravidez. Legenda: TAS: Tensão arterial sistólica; TAD: Tensão arterial diastólica; RCF: Restrição de crescimento fetal.

3.5 Etiologia e Fatores de Risco para a Pré-Eclâmpsia

A causa exata da PE ainda não é completamente compreendida. No entanto, acredita-se que resulte de um desequilíbrio na função endotelial, disfunção imunológica e inflamação sistêmica. No entanto, é difícil determinar por que algumas mulheres desenvolvem PE e outras não. A PE é considerada o resultado de uma combinação de fatores genéticos, imunológicos, fisiológicos e ambientais (Jung et al., 2022). Muitas possíveis causas têm sido discutidas ao longo do tempo; sendo que algumas delas já foram abordadas no decorrer do presente trabalho. As mais prováveis incluem isquemia uteroplacentária, infecção materna (periodontal, trato urinário, SARS-CoV-2), disbiose intestinal materna, distúrbios do sono, mola hidatiforme, doenças fetais, mecanismos autoimunes, envelhecimento placentário, quebra de tolerância imunológica materno-fetal e distúrbios endócrinos (Jung et al., 2022).

Com base em estudos realizados ao longo do tempo e na necessidade de fornecer diretrizes e recomendações aos clínicos sobre as probabilidades de uma mulher desenvolver PE durante a gestação, diversas organizações definiram critérios semelhantes para classificar os fatores de risco da PE. De acordo com NICE, o risco de PE pode ser considerado alto ou moderado, de acordo com os parâmetros ilustrados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Fatores de risco para a Pré-Eclâmpsia, segundo NICE (NICE guideline, 2019)

Fatores de risco para a Pré-Eclâmpsia	
RISCO ELEVADO	RISCO MODERADO
• Doença renal pré-existente • Diabetes Mellitus tipo I/II • Hipertensão Arterial Crônica • Doenças autoimunes (lúpus eritematoso sistêmico ou síndrome antifosfolípido) • Doença hipertensiva numa gravidez anterior	• Índice de massa corporal elevado • História familiar de pré-eclâmpsia • Gravidez múltipla • Nuliparidade • Idade materna > 40 anos • Gravidez intervalar > 10 anos

Estudos recentes e controversos sugerem que a infecção pelo SARS-CoV-2 durante a gestação contribui para o desenvolvimento de uma condição muito semelhante à PE, (Jung et al., 2022; Nascimento et al., 2023). A teoria que sustenta o mecanismo fisiopatológico baseia-se na possibilidade de o SARS-CoV-2 infectar células endoteliais, que normalmente expressam a enzima conversora da angiotensina (ECA). Essa enzima é um dos receptores celulares utilizados pelo vírus para entrar nas células e está localizada principalmente nos pulmões, endotélio vascular e rins. A infecção endotelial pode levar à ativação da trombina e à inflamação intravascular, resultando em alterações hemodinâmicas em órgãos-alvo (Narkhede and Karnad, 2021). Esse mecanismo fisiopatológico, induz a manifestações sugestivas de PE, não se limitando apenas ao envolvimento renal, mas também ao de outros órgãos (Jung et al., 2022; Nascimento et al., 2023).

Em suma, a existência de fatores de risco não garante o desenvolvimento da PE, mas aumenta a probabilidade da sua ocorrência. Como tal, todas as gestantes consideradas clinicamente em risco de desenvolver PE, devem ser acompanhadas em consultas da especialidade, cumprir corretamente com a terapia anti-hipertensiva (se aplicável) prescrita pelo médico, medir frequentemente a TA (em regime de ambulatório), fazer repouso ou exercício físico moderado, praticar uma alimentação saudável (com pouco sal) e procurar cuidados de saúde, se na presença de determinados sinais e sintomas (HTA, dores de cabeça, distúrbios visuais, náuseas, vômitos, epigastria, edemas, aumento súbito de peso, entre outros) (NICE guideline, 2019).

De acordo com diversas diretrizes, como ACOG, NICE (National Institute for Health and Care Excellence) e ISSHP, a administração de ácido acetilsalicílico de baixa dosagem, situada na faixa de 75-150mg, é recomendada para reduzir o risco de PE em grávidas consideradas de alto risco. Essa medida preventiva geralmente começa entre as 12 e as 16 semanas de gestação e deve ser mantida até o final da gravidez (Stepan et al., 2023). A utilização de ácido acetilsalicílico deve-se às suas propriedades anti-inflamatórias e à inibição da agregação plaquetária, com consequências na perfusão uteroplacentária, proporcionando maior aporte de oxigênio e nutrientes ao feto em formação (Ives et al., 2020; NICE guideline, 2019).

3.6 Perspetivas Futuras para Mães e Filhos com Histórico de Pré-Eclâmpsia

Embora as piores repercussões na PE se observem durante a gestação e logo após o parto, ela também pode trazer consequências significativas a longo prazo, tanto para a mãe quanto para o filho (Oliveira et al., 2010). Algumas das possíveis consequências a longo prazo incluem:

1. Doença cardiovascular: As mulheres que tiveram PE grave têm um risco aumentado de desenvolver doenças cardiovasculares. Com efeito, o estreitamento arterial e o acometimento vascular e dislipidémico, contribuem para uma maior progressão para a aterosclerose, resultando no estreitamento do lúmen e diminuição do fluxo sanguíneo (Oliveira et al., 2010). Essa situação pode trazer consequências para o funcionamento dos respetivos órgãos adjacentes às artérias afetadas, provocando AVC, embolias, enfartes, entre outros (Facca et al., 2012; Jung et al., 2022).
2. Disfunção renal: A PE grave, com comprometimento renal, pode aumentar o risco de desenvolvimento de doença renal crónica no futuro (Oliveira et al., 2010).
3. Complicações metabólicas: A PE grave está associada a um maior risco de desenvolver diabetes Mellitus tipo 2 e síndrome metabólico (Facca et al., 2012).
4. Risco aumentado de recorrência: Mulheres que tiveram PE grave numa gravidez anterior têm maior probabilidade de vir a desenvolver novamente a condição em gestações futuras (Burton et al., 2019).

Pessoas que nasceram de gestações complicadas por PE, podem vir a desenvolver no futuro HTA, doenças cardiovasculares, metabólicas e cerebrais, resultantes da isquemia uteroplacentária a que foram sujeitas durante a vida intrauterina (Facca et al., 2012). Enquanto crianças, a eventual prematuridade e os problemas respiratórios são condicionantes que podem trazer consequências significativas a longo prazo para o desenvolvimento e saúde da criança (Burton et al., 2019).

4 DIAGNÓSTICO DA PRÉ-ECLÂMPسيا NO POLO MATERNIDADE DR. ALFREDO DA COSTA

4.1 Protocolo clínico e Laboratorial da Pré-Eclâmpسيا

O apoio dos meios complementares de diagnóstico, dos quais se inclui o suporte laboratorial, é fundamental para o diagnóstico preciso da PE. Quando uma grávida se dirige a uma consulta pré-natal, ela é inicialmente avaliada com base na sua história clínica e eventuais sintomas apresentados. Havendo suspeitas de HTA, o clínico prescreve um conjunto de análises laboratoriais que visam confirmar, alertar ou descartar uma possível PE.

Na tabela 4.1 estão enumerados os parâmetros laboratoriais incluídos no perfil laboratorial da PE, de acordo com o seu protocolo clínico, aprovado pelo Conselho de Administração do CHULC, em 30 de março de 2022 (Lacerda et al., 2022).

Tabela 4.1 - Protocolo da Pré-Eclâmpسيا aprovado pela administração do CHULC.

Protocolo da Pré-Eclâmpسيا
. Hemograma completo
. Estudo da coagulação: Tempo de protrombina (TP) e tempo tromboplastina ativada (aPTT)
. Glicose
. AST/ALT/LDH
. Ácido úrico e creatinina
. Proteínas totais e albumina
. Urina tipo II
. Proteinúria em amostra ocasional
. Razão proteínas urinárias/creatinina urinária (para efeitos de diagnóstico)

Os parâmetros laboratoriais acima mencionados possibilitam uma avaliação abrangente da função renal, hepática e metabólica, além de contribuir no diagnóstico e monitorização da PE. É importante ressaltar que os protocolos e perfis laboratoriais podem variar entre diferentes instituições de saúde. Para fins de diagnóstico da doença, os valores de corte para a presença de proteinúria são determinados com base no tipo de amostra ou análise prescrita (tabela 4.2) (Gathiram and Moodley, 2020).

Tendo em conta que a única solução eficaz para as situações de PE é o parto, com a remoção total da placenta, a decisão clínica em avançar para o parto imediato depende do momento da gestação e dos critérios de gravidade eventualmente existentes (Lacerda et al., 2022).

Tabela 4.2 - Valores de corte de proteinúria para o diagnóstico de PE, consoante o tipo de amostra de urina/análise prescrita (Lacerda et al., 2022).

Tipo de amostra	Valor proteinúria
Urina de 24 horas	≥ 300mg / 24 horas
Urina ocasional	≥ 30 mg/dL
Razão urinária proteínas/creatinina	≥ 300 mg/g
Tira-teste semi-quantitativo (usar apenas quando os restantes métodos alternativos não estão disponíveis)	≥ +1

Em casos em que a proteinúria não está presente, o diagnóstico é feito pela presença de, pelo menos, um dos seguintes critérios de gravidade apresentados na tabela 4.3 (Gathiram and Moodley, 2020; Lacerda et al., 2022).

Tabela 4.3 - Critérios de gravidade da pré-eclâmpsia (Lacerda et al., 2022).

Critérios de gravidade da Pré-Eclâmpsia
. Tensão arterial sistólica igual ou superior a 160 mmHg e/ou tensão arterial diastólica igual ou superior a 110 mmHg, com duas avaliações em repouso, com pelo menos 15 minutos de intervalo
. Alterações visuais ou neurológicas (cefaleias intensas, escotomas, visão turva, fotofobia)
. Edema pulmonar
. Epigastralgia ou dor persistente e severa no quadrante superior direito do abdómen, sem causa aparente
. Trombocitopenia < 100.000/μl
. Insuficiência renal (creatinina > 1,1 mg/dl ou duas vezes o seu valor prévio, sem causa aparente)
. Elevação das transaminases (igual ou superior ao valor normal)
. Restrição de crescimento fetal (RCF)

Adotar uma atitude expectante nos casos de hipertensão gestacional ou de PE sem critérios de gravidade, no período pré-termo, pode favorecer o desenvolvimento fetal. No entanto, manter esta postura para além das 36 semanas, pode trazer riscos imprevisíveis, embora em menor escala, de um agravamento do estado de saúde materna e/ou fetal, com possíveis complicações inerentes (Narkhede and Karnad, 2021). Face a este contexto, estudos indiciam que induzir o trabalho de parto logo após as 36 semanas de gestação em mulheres com PE sem critérios de gravidade, pode reduzir o aparecimento de complicações maternas graves, não comprometendo a saúde neonatal (Narkhede and Karnad, 2021).

Em Portugal e mais concretamente no polo MAC, o protocolo clínico da PE determina três contextos clínicos distintos, para os quais devem ser adotadas diferentes procedimentos:

a) Pré-Eclâmpsia diagnosticada antes da 25ª semana de gestação

Nestas situações, o parto deve ocorrer após a estabilização materna. Devido à prematuridade extrema nesta fase gestacional, deve ser constituída uma equipa multidisciplinar para discutir com o casal o contexto clínico e as implicações inerentes (Lacerda et al., 2022).

b) Pré-Eclâmpsia diagnosticada: > 25ª e < 34ª semana de gestação

Nestes contextos, configuram-se dois possíveis cenários. O primeiro recomenda uma atitude expectante se a PA estiver controlada e houver estabilização materna e monitorização fetal tranquilizadora. A todas as grávidas em risco de parto prematuro, com idade gestacional inferior à 35ª semana de gestação, devem ser administrados corticosteroides para assegurar que o feto em desenvolvimento completa a sua maturação pulmonar, aumentando a probabilidade de um nascimento saudável e reduzindo o risco de complicações respiratórias após o nascimento. Enquanto isso não acontece, a grávida é transferida para a enfermaria, com vigilância materna e fetal diária. Conforme a evolução da situação clínica e uma vez concluído o ciclo de maturação pulmonar, o parto pode ocorrer a partir da 32ª semana de gestação (Lacerda et al., 2022).

O outro cenário aplica-se às situações de decisão de parto imediato ou parto prematuro iatrogénico. O parto imediato antes da 34ª semana de gestação pode ser decidido em situações de urgência diante de diversos cenários de gravidade, como o início do trabalho de parto, presença de HTA não controlada, agravamento analítico e laboratorial progressivo, cefaleias graves e persistentes, epigastria persistente, descolamento prematuro da placenta previamente inserida, rotura prematura pré-termo das membranas, edema pulmonar, oligúria persistente não tratável, síndrome de HELLP, eclâmpsia, morte fetal e monitorização fetal não tranquilizadora, entre outros (Lacerda et al., 2022).

c) Pré-Eclâmpsia diagnosticada após a 34ª semana de gestação

Por fim, este cenário é o mais favorável de todos, uma vez que o feto já completou naturalmente a sua maturação pulmonar, permitindo que o parto ocorra a qualquer momento sem grandes complicações. Normalmente, na ausência de critérios de gravidade e garantido o bem-estar materno e fetal, basta que se cumpra o agendamento médico periódico em regime de ambulatório e que a grávida meça diariamente a sua PA e esteja atenta a qualquer sinal ou sintoma que possa surgir (Lacerda et al., 2022).

4.2 Procedimentos Laboratoriais para o Desenvolvimento e Validação do Método que Determina a Razão sFlt-1/PLGF

A descoberta de fatores angiogénicos envolvidos na fisiopatologia da PE representa um avanço significativo no diagnóstico e prognóstico da PE. Dois desses fatores, têm recebido uma especial atenção: o fator anti-angiogénico sFlt-1 e o fator pró-angiogénico PLGF (Tataru-Copos et al., 2022). Ambas as moléculas podem ser quantificadas laboratorialmente em soro, conferindo-lhes a característica de biomarcadores, na medida em que fornecem informações sobre a saúde da placenta e estabelecem uma relação direta com o início e a gravidade da PE (Narkhede and Karnad, 2021).

A razão sFlt-1/PLGF é considerada um preditor mais eficaz da PE em comparação com a determinação isolada de qualquer um dos biomarcadores. Com efeito, a razão destaca a interação fisiológica entre ambos os biomarcadores, aumentando a sensibilidade e a especificidade no diagnóstico da PE (Tataru-Copos et al., 2022). Além disso, calcular a razão entre ambos os parâmetros, melhora a estabilidade dos resultados, minimizando a influência de fatores externos (Diagnostics, 2022a, 2022b).

A execução de qualquer análise laboratorial envolve três etapas distintas:

- Fase Pré-analítica – Esta fase consiste em todos os procedimentos que antecedem o processamento da análise laboratorial propriamente dita. Isso inclui a preparação do utente, a sua correta identificação, a colheita do produto biológico, o acondicionamento e transporte adequados, entre outros (Santos and Trevisan, 2021).
- Fase Analítica – Esta fase envolve o procedimento analítico da amostra, com a correta implementação do método a utilizar. Este deve estar devidamente calibrado e controlado, garantindo deste modo que o resultado obtido seja preciso, reprodutível e verdadeiro (Santos and Trevisan, 2021).
- Fase Pós-analítica- É a etapa que surge logo após a obtenção do resultado e da correta interpretação do mesmo. Envolve a emissão do relatório clínico dos resultados e a entrega dos mesmos ao clínico responsável, que posteriormente os associa ao utente correspondente. Esta fase também pode incluir a interpretação dos resultados, geralmente realizada pelo clínico que prescreve as análises (Santos and Trevisan, 2021).

4.2.1 Fase Pré-Analítica para a Determinação dos Parâmetros sFlt-1-/PLGF

Após a confirmação da identidade da grávida, comparando-a com os dados da prescrição médica, procede-se à colheita de sangue total por punção venosa, a qualquer hora do dia, sem necessidade de jejum. A identificação da amostra de sangue é efetuada por meio de um código de barras que permite identificar o utente e integrá-lo no programa informático *Clinidata II*. A amostra de sangue é colhida para um tubo seco ou com gel separador, sendo estes os únicos tipos de tubos de amostra testados e aceites pela empresa detentora do equipamento. No CHULC, polo MAC, utilizam-se os tubos da empresa Sarstedt, conforme ilustrado na figura 4.1.



Figura 4.1 - Imagens referentes aos tubos da marca Sarstedt, com gel separador, utilizados para a determinação dos parâmetros sFlt-1 e PLGF no polo MAC.

Após a retração do coágulo, as amostras são centrifugadas a 3000 rotações por minuto, durante 10 minutos. O soro resultante é analisado até 2 horas à temperatura ambiente ou, em alternativa, armazenado a 2-8°C por até 48 horas (incluindo o tempo necessário para eventuais transportes a 2-8°C). O soro também pode ser congelado uma vez, a uma temperatura igual ou inferior a -20°C (+/-5°C), por um período máximo de 6 meses (Diagnostics, 2022b, 2022a). As amostras que apresentem precipitado devem ser submetidas a uma nova centrifugação antes da realização do ensaio. Todas as amostras, controlos e calibradores devem ser estabilizados à temperatura ambiente (20-25°C) antes da sua utilização (Diagnostics, 2022a, 2022b). Embora exista uma área de triagem de amostras no departamento de PC da MAC, as amostras de mulheres grávidas com prescrições médicas para a determinação da relação sFlt-1/PLGF são encaminhadas diretamente para o Core, um local onde são centrifugadas e processadas. Nesse contexto, não é necessário realizar uma triagem prévia que garanta a qualidade pré-analítica exigida nestas circunstâncias.

4.2.2 Fase Analítica para a Determinação dos Parâmetros sFlt-1-/PLGF

No laboratório de PC do polo MAC, CHULC, os níveis séricos de sFlt-1 e PLGF são determinados pelo *módulo Cobas e 601* (conforme ilustrado na figura 4.2), o qual possui uma capacidade de processamento de até 170 testes por hora. Este módulo encontra-se integrado no equipamento *Cobas® 6000 Analyzer Series*, desenvolvido pela *Roche Diagnostics*. Este equipamento está otimizado para lidar com um elevado volume de trabalho, utilizando uma combinação de eletrodo seletivo de iões (ISE), uma unidade de análise fotométrica (módulo c 501), e um módulo de análise de imunoensaios (módulo e 601) (Diagnostics, 2021).



Figura 4.2 - Equipamento Cobas 6000 Analyzer Series. O módulo Cobas e 601 situa-se à direita do equipamento

As amostras em estudo são colocadas nos suportes ou racks adequadas que encaixam na zona de entrada de suportes (localizado à esquerda do equipamento), com o código de barras virado para a frente. O leitor de código de barras integrado no equipamento permite a identificação da amostra e os parâmetros a serem analisados, uma vez que utiliza uma interface de conexão com o programa informático. Os suportes com as amostras em estudo são transportados até o módulo e 601 pela unidade *core cu 150* do sistema cobas 6000, conforme ilustrado na figura 4.3 (Diagnostics, 2021).

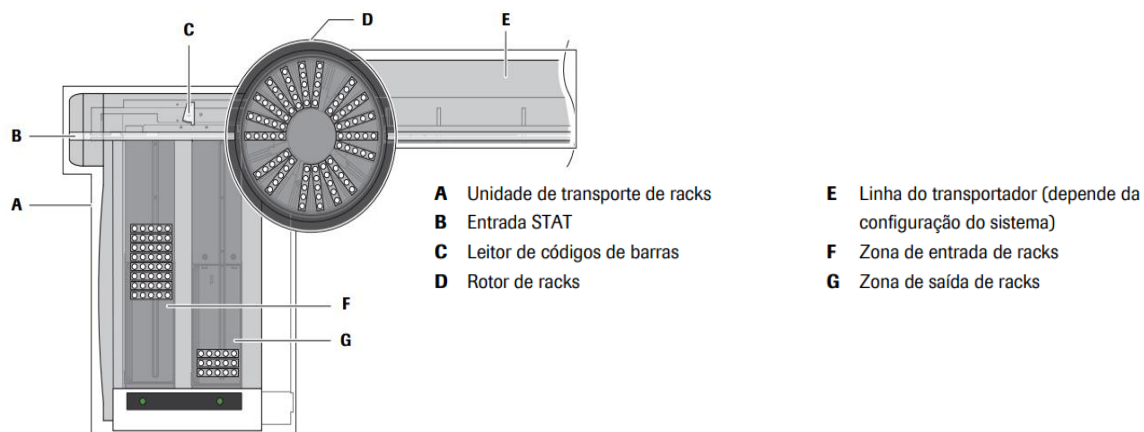


Figura 4.3 - Unidade *core cu 150* do equipamento Cobas® 6000 Analyzer Series.

Os principais componentes do módulo e 601 são os seguintes (fig. 4.4) (Diagnostics, 2021):

- Área de reagentes- Localiza-se no lado esquerdo do analisador e é constituída por um disco de reagentes, um leitor de códigos de barras, um mecanismo de abertura/fecho de tampas, um agitador de microesferas, uma pipeta de reagente e duas estações de lavagem.
- Área de leitura- Situa-se a meio do analisador e inclui um incubador, uma pipeta da amostra, duas pipetas de aspiração, duas estações de lavagem de aspiração e as duas células de leitura.
- Área de consumíveis- Visível do lado direito do *Cobas e 601*, esta área é composta por uma garra, estação de mistura, estação de pontas de ensaio, elevador de tabuleiros, dois recipientes de resíduos sólidos, o compartimento de tabuleiros vazios, bem como reagentes auxiliares e soluções de lavagem.
- Área de PreClean M / ProCell M- Localizada na parte média e traseira do módulo analítico, esta área inclui os reagentes auxiliares PreClean M e o ProCell M.

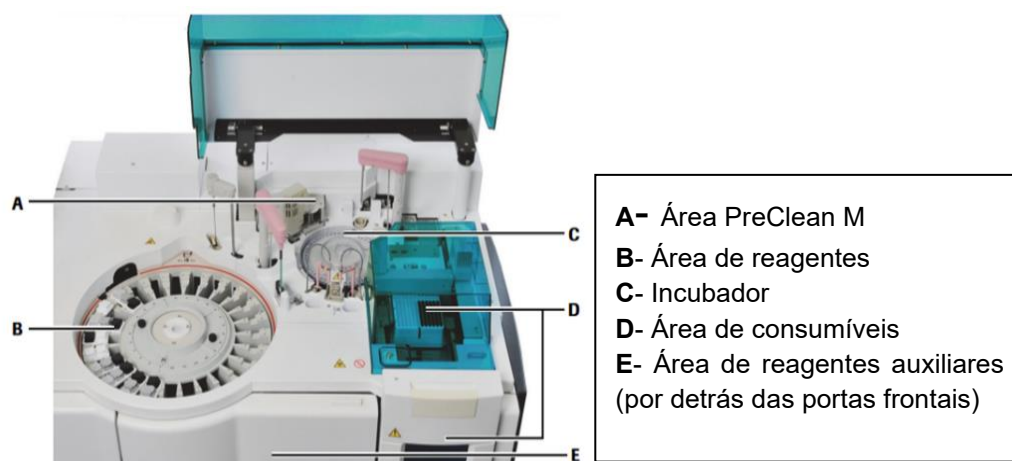


Figura 4.4 - Vista superior do módulo Cobas e 601

4.2.2.1 Reagentes

Para a determinação de ambos os parâmetros sFlt-1 e PLGF, o Cobas e 601 utiliza dois packs de reagentes e quatro reagentes auxiliares (conforme o conjunto de imagens da figura 4.5):

- Pack de reagente sFlt-1
- Pack de reagente PLGF
- ProCell M
- CleanCell M
- PreClean M
- ProbeWash M



Figura 4.5 - Conjunto de imagens referentes aos dois packs de reagentes e a três reagentes auxiliares; todos necessários para a determinação dos parâmetros sFlt-1 e PLGF.

Conforme apresentado na Tabela 4.4, cada pack Elecsys sFlt-1 e Elecsys PLGF é composto por três reagentes distintos, os quais se encontram em determinadas concentrações específicas e incluem a adição de um conservante adequado para prolongar a sua viabilidade.

Tabela 4.4 - Descrição da constituição dos packs de reagentes Elecsys sFlt-1 e PLGF e dos reagentes auxiliares; ProCell M, CleanCell M, PreClean M e ProbeWash M.

Pack de reagentes sFlt-1		100 Testes
Designação	tampa	Componentes
M	Transparente	Micropartículas revestidas de estreptavidina
R1	Cinzento	Anticorpos monoclonais biotinilados anti-sFlt-1
R2	Preto	Anticorpo monoclonal anti-sFlt-1, marcado com um complexo de ruténio

Pack de reagentes PLGF		100 Testes
Designação	tampa	Componentes
M	Transparente	Micropartículas revestidas de estreptavidina
R1	Cinzento	Anticorpos monoclonais biotinilados anti-PLGF
R2	Preto	Anticorpo monoclonal anti-PLGF, marcado com um complexo de ruténio

ProCell M	Solução tampão que contém tripropilamina (TPA)
CleanCell M	Solução de hidróxido de potássio
PreClean M	Tampão fosfato, cloreto de sódio e detergente
Probe Wash M	Hidróxido de potássio e detergente

4.2.2.2 Calibração

Como em qualquer analisador automatizado, é essencial efetuar uma calibração para determinar com a máxima precisão possível, a concentração de um analito desconhecido. Isso deve ser feito independentemente do lote do reagente, das condições do reagente e do desempenho do analisador (Diagnostics, 2021). Nesse sentido, a Roche Diagnostics cria uma curva de normalização de referência durante a produção dos reagentes, utilizando para o efeito reagentes do kit de teste principal e material padrão de referência certificado. Os resultados dessa curva de referência servirão como base para a produção de dois calibradores principais, denominados *CalSet*, os quais são posteriormente fornecidos a cada laboratório. Isso possibilita que cada local avalie a sua própria determinação analítica, face às condições pré-existentes (fig. 4.6).

Uma vez em laboratório e após obtida a nova curva de calibração, a mesma poderá ser validada automaticamente ou, em alternativa, pelo Técnico Superior de Análises Clínicas e Saúde Pública. O resultado da nova calibração é válido para cada lote de reagente, caso a calibração seja realizada nas primeiras 24 horas após a introdução do reagente no equipamento. Nos casos em que a calibração é realizada após as primeiras 24 horas da introdução do reagente no equipamento, a calibração é válida apenas para “aquela” embalagem individual do pack de reagentes.

Existem várias circunstâncias técnicas que recomendam a recalibração dos parâmetros analíticos, neste caso, o sFlt-1 e o PLGF. Estas circunstâncias incluem:

- Após 28 dias, nos casos em que está a uso o mesmo lote de reagente (Diagnostics, 2022a, 2022b, 2021);
- Após 7 dias, quando ainda está a uso o mesmo pack de reagentes (Diagnostics, 2022b, 2022a, 2021);
- Sempre que o resultado do controlo de qualidade estiver fora dos valores predefinidos (Diagnostics, 2021; Westgard, 2003);



Figura 4.6 - Imagens que ilustram ambos os calibradores para os parâmetros sFlt-1 e PLGF.

É importante destacar que a estabilidade da calibração depende tanto da estabilidade do lote da calibração a longo prazo, das condições do equipamento e dos prazos de validade dos reagentes (Diagnostics, 2021), quanto da estabilidade da calibração da embalagem individual do pack de reagentes. Estes fatores devem ser tidos em consideração, por exemplo, ao avaliar o desempenho do reagente, especialmente quando armazenado a bordo do equipamento (Diagnostics, 2021).

4.2.2.3 Controlo de Qualidade

Apesar dos avanços tecnológicos ao longo dos anos terem possibilitado a implementação de medidas preventivas visando a redução de erros nas fases pré-analíticas, analíticas e pós-analíticas, é importante reconhecer que as falhas ainda acontecem (Valentini et al., 2007). A principal fonte de erros continua a ser a intervenção humana, o que sublinha a importância de implementar sistemas de controlo de qualidade (CQ) ao longo de todas as fases da análise laboratorial. O reconhecimento desses fatos impulsiona o esforço contínuo para minimizar eventuais causas de erro, com impacto visível na precisão dos resultados clínicos. Essa precisão, por sua vez, possibilita um tratamento adequado, reduzindo o tempo necessário e aumentando a credibilidade dos métodos complementares de diagnóstico (Valentini et al., 2007).

O CQ é um processo estatístico utilizado para monitorizar e avaliar um procedimento analítico que produz resultados clínicos de pacientes. Para tal, são realizados ensaios regulares com produtos de CQ, geralmente constituídos por dois ou três níveis com diferentes concentrações do analito em estudo. Após a obtenção dos resultados dos controlos, eles são comparados com limites estatísticos específicos e predefinidos (W. Gregory Cooper, 2011).

A medição regular dos produtos de CQ permite criar um *banco de dados* ao qual cada laboratório tem acesso prévio para validar os resultados dos utentes. A validação ocorre pela comparação dos resultados diários do CQ com os intervalos predefinidos por cada laboratório. A estatística e a definição destes intervalos variam de acordo com cada nível de controlo e refletem o comportamento do teste em concentrações específicas. As medidas de estatística laboratorial mais utilizadas são a *média* ($\bar{X}$) e o *desvio-padrão* (DP) (W. Gregory Cooper, 2011).

A média reflete a melhor estimativa da concentração verdadeira do analito presente em cada um dos níveis de controlo. O cálculo da $\bar{X}$ para cada nível resulta da soma de todos os resultados obtidos, divididos pelo número total de resultados (W. Gregory Cooper, 2011).

O desvio padrão é uma medida de estatística que permite posicionar um determinado resultado em relação aos outros. O SD é calculado com base nos mesmos dados utilizados para o cálculo da média. A repetibilidade de um teste pode ser consistente (desvio-padrão baixo, baixa imprecisão) ou inconsistente (desvio-padrão alto, alta imprecisão). Neste caso, o mau desempenho do teste pode estar relacionado com o envolvimento de inúmeros fatores, pelo que o laboratório deve corrigir o problema o mais rapidamente possível. Uma boa precisão dos resultados é essencial para os parâmetros que são regularmente medidos no mesmo paciente, para a monitorização de determinada patologia ou acompanhamento do seu respetivo tratamento (W. Gregory Cooper, 2011).

A descrição do controlo de qualidade que se segue, diz respeito à avaliação do desempenho do equipamento *módulo Cobas e 601* perante a determinação analítica dos parâmetros sFlt-1 e PLGF no laboratório de PC do polo MAC. O CQ dos biomarcadores em causa envolve o uso de dois níveis de controlo específicos fabricados pela *Roche Diagnostics*: o *PreciControl Multimarker 1* e o *PreciControl Multimarker 2* (fig. 4.7).

Os parâmetros em questão devem ser controlados logo após a calibração, pelo menos a cada 24 horas (se o reagente for estável) ou sempre que alguma alteração ocorra e potencialmente possa afetar a estabilidade do parâmetro (W. Gregory Cooper, 2011). A avaliação do CQ permite validar o desempenho dos resultados obtidos na determinação analítica de ambos os parâmetros sFlt-1 e PLGF (Diagnostics, 2021).



Figura 4.7 - Imagem que ilustra os dois níveis de controle de qualidade a serem efetuados para validar o desempenho analítico dos parâmetros sFlt-1/PLGF.

Após a obtenção dos resultados da determinação dos dois níveis de controle para os biomarcadores em questão, estes são transferidos para um software específico da Bio-Rad, denominado *Unity Real Time*. Nesse programa, os resultados podem ser visualizados em um gráfico de Levey-Jennings e interpretados de acordo com as regras múltiplas de Westgard (fig. 4.8 e fig. 4.9, respectivamente). Os resultados são comparados com a média desejada e os limites predefinidos de desvio padrão.

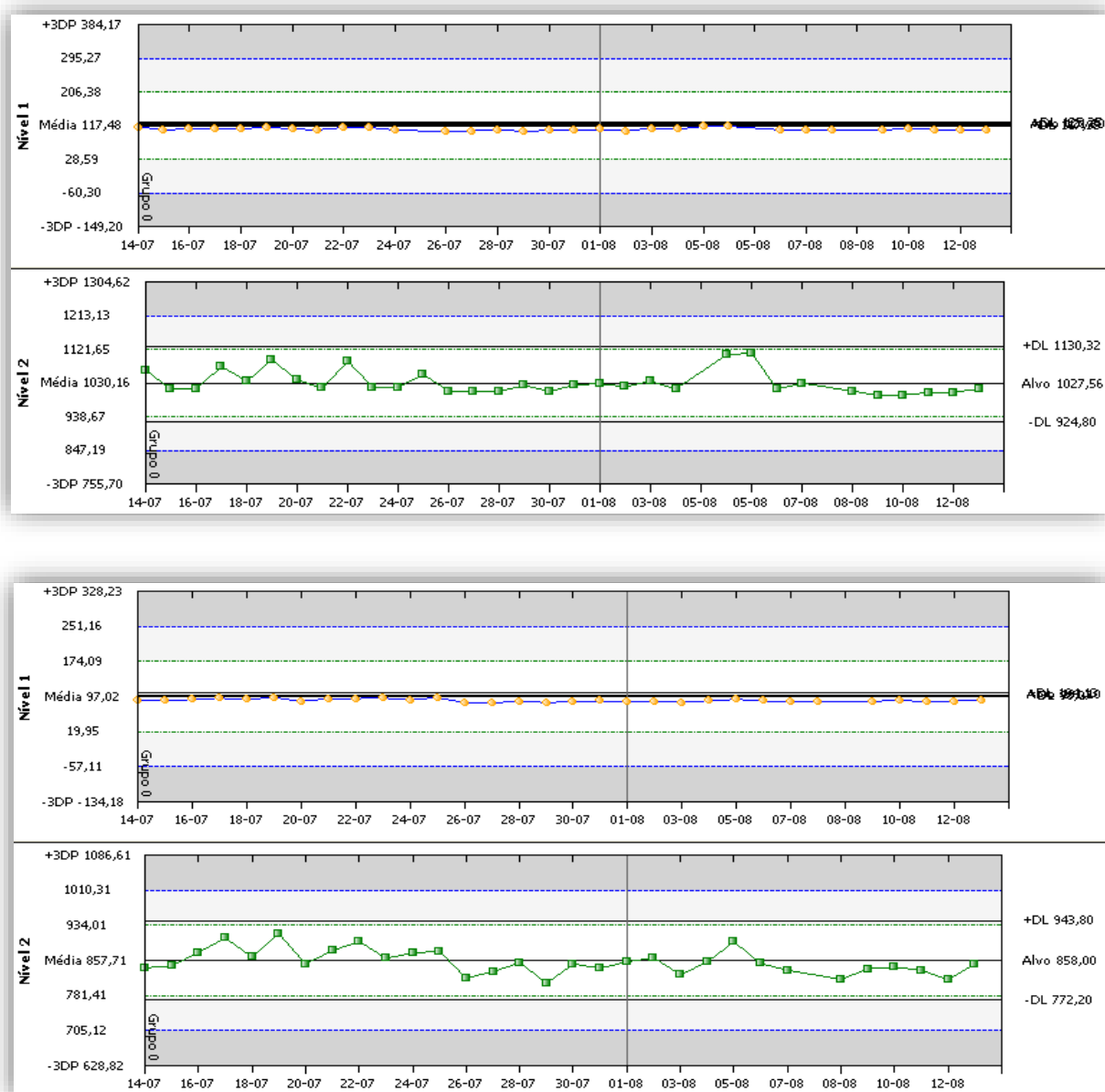


Figura 4.8 - Exemplo de gráficos de Levey-Jennings, neste caso aplicados ao controle de qualidade dos parâmetros analíticos sFlt-1 (os dois primeiros) e PLGF (os dois últimos gráficos) efetuado no período de 14/7 a 13/08 de 2023 e interpretados de acordo com as regras de Westgard – Os dois primeiros gráficos referem-se ao CQ do parâmetro sFlt-1, conseguido a partir da medição de dois níveis de controle, cuja constituição é previamente conhecida: um com valor considerado normal (nível 1) e o outro com valor elevado (nível 2). Para ambos os níveis, os valores obtidos ao longo do tempo aproximaram-se e oscilaram de acordo com a média esperada para o nível 1 (117,7 pg/mL) e para o nível 2 (1030,53 pg/mL). Uma interpretação idêntica deverá ser feita para o parâmetro PLGF.

Tendo em conta os limites previamente estabelecidos e as condições pré-existent em cada laboratório, este deverá definir os seus próprios limites de CQ e implementar medidas corretivas sempre que os resultados obtidos se situem fora dos limites predefinidos. Após a correção, dever-se-á controlar novamente os parâmetros, de modo a avaliar se estes já se encontram com o desempenho desejado.

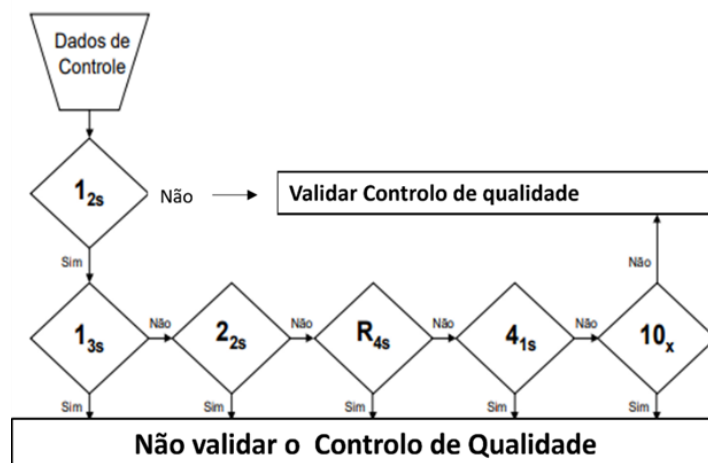


Figura 4.9 - Resumo esquemático das regras de Westgard - A única violação da regra de 1_{2s} constitui uma regra de alerta, que valida o CQ, mas que deve ser confirmada à posteriori. A violação de regras acrescidas invalida o controle de qualidade, devendo ser implementadas as medidas corretivas adequadas (Westgard, 2003).

4.2.2.4 Descrição do método

A quantificação dos biomarcadores sFlt-1 e PLGF na circulação materna pode ser determinada laboratorialmente por meio de testes de imunoensaio.

O ensaio para ambos os parâmetros sFlt-1 e PLGF tem uma duração total de 18 minutos e inclui um *complexo de sanduíche* e uma leitura por *eletroquimioluminescência (ECL)* (fig. 4.10).

O método inicia-se com uma primeira reação, na qual a amostra de soro contendo sFlt-1 ou PLGF, é incubada com anticorpos monoclonais biotinilados e anticorpos monoclonais marcados com um complexo de ruténio, específicos para cada biomarcador em estudo. Esta reação permite formar um *complexo de sanduíche*, no qual os anticorpos presentes no pack de reagentes capturam os analitos sFlt-1 /PLGF presentes na amostra (antígenos).

Numa segunda Incubação, micropartículas revestidas de estreptavidina são adicionadas à mistura. O complexo de sanduíche formado liga-se à fase sólida (micropartículas), através da interação entre a biotina e a estreptavidina. A solução de PreClean M é utilizada para ressuspender as microesferas e remover substâncias potencialmente interferentes na reação.

A mistura de reação formada é então conduzida para a célula de leitura, sendo os imunocomplexos formados, magneticamente fixados à superfície do eletrodo. Todo o material não fixado ou em excesso é removido com ProCell M, que contém tripropilamina (TPA), uma substância electroquimicamente ativa que contribui para a emissão do sinal quimioluminescente.

Como o complexo de ruténio e a TPA é formado por substâncias electroquimicamente ativas, ao ser aplicada uma tensão aos imunocomplexos fixados, desencadeia-se uma reação eletroquímica

com consequente emissão quimioluminescente. Um fotomultiplicador registra o pico de luz emitido, o qual é diretamente proporcional à quantidade de sFlt-1/PLGF presente na amostra.

Os resultados para ambos os parâmetros são expressos em pg/mL, sendo a razão sFlt-1/PLGF obtida por cálculo, pela divisão do resultado do sFlt-1 pelo PLGF (Diagnostics, 2022a, 2022b, 2021).

Após a leitura, as microesferas paramagnéticas são lavadas da superfície do eletrodo, com a solução de limpeza CleanCell M, preparando-o para uma nova medição.

A ECL é, portanto, uma técnica analítica avançada que combina princípios da eletroquímica (transferência de elétrons entre espécies químicas) com a quimioluminescência (emissão de luz resultante de reações químicas).

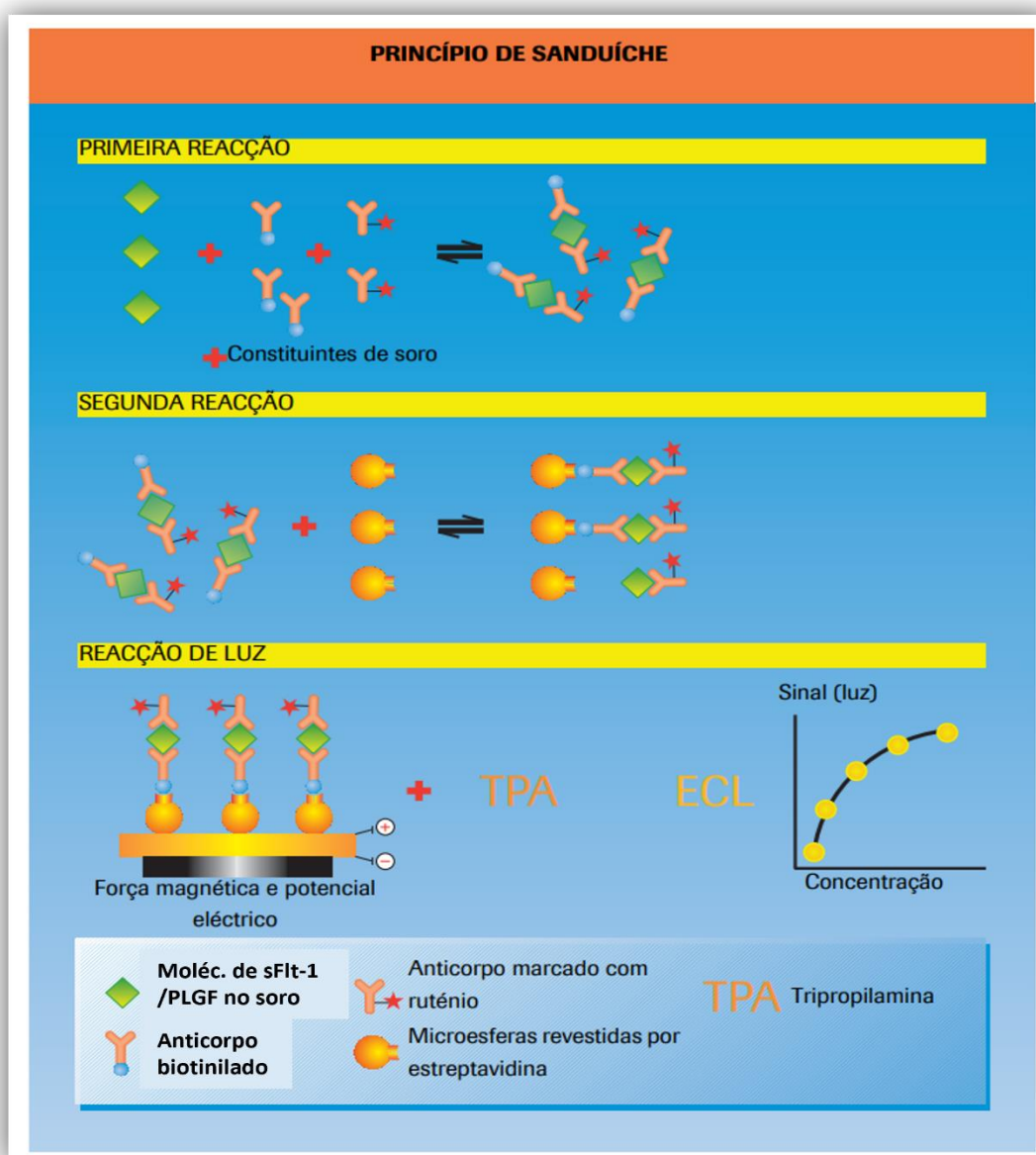


Figura 4.10 - Princípio de sanduíche associado à eletroquimioluminescência (Diagnostics, 2021)

Embora a metodologia utilizada apresente algumas limitações e interferências, como por exemplo, elevadas concentrações de biotina, fatores reumatóides ou outros fatores extrínsecos à amostra, ela permite controlar toda a reação com bastante precisão. No entanto, os resultados obtidos devem ser sempre interpretados em conjunto com a história clínica do paciente, exame clínico e outros meios complementares de diagnóstico (Diagnostics, 2022a, 2022b).

Para estabelecer a linearidade do método, é necessário definir os limites do branco, os limites de detecção e o limite de quantificação. O limite mínimo de detecção corresponde à concentração mais baixa do analito que ainda é possível quantificar através da metodologia em uso. Este limite é obtido a partir da medição de mais de 60 amostras isentas do analito em várias séries independentes, representando, portanto, a concentração mais baixa na qual as amostras ficam isentas de analito, com uma probabilidade de 95%. A determinação do limite mínimo de detecção baseou-se no limite do branco e no desvio padrão de amostras com concentrações baixas.

O limite de quantificação (sensibilidade funcional) representa a concentração mínima do analito que pode ser medido de modo reproduzível, mantendo um coeficiente de variação de precisão intermédia $\leq 20\%$. Isso implica que, quando a concentração do analito está acima desse limite, os resultados laboratoriais já atingiram consistência e precisão suficientes para serem quantificados com confiança.

Para estudos de linearidade, recomenda-se o uso de amostras diluídas em soro humano com concentração superior a 5000 pg/mL. É importante destacar que o analito sFlt-1 pode apresentar um comportamento não linear em algumas amostras quando diluído.

Devido à elevada amplitude de detecção dos analitos em questão, não é necessário realizar diluições para a obtenção de resultados (tabela 4.5) (Diagnostics, 2022b, 2022a).

Tabela 4.5 - Valores estabelecidos para o limite do branco, limite mínimo de detecção, limite de quantificação e limite máximo de detecção para os parâmetros sFlt-1 e PLGF

	Limite do branco (pg/mL)	Limite mínimo de detecção (pg/mL)	Limite de quantificação (pg/mL)	Limite máximo de detecção (pg/mL)
sFlt-1	6	10	15	85000
PLGF	2	3	10	10000

5 EXPLORAÇÃO DA RAZÃO sFlt-1/PLGF COMO BIOMARCADOR

Apesar de fortemente relacionados com a PE, a medição da tensão arterial e a quantificação da proteinúria revelam imprecisões e um valor preditivo positivo (VPP) de apenas 20% na detecção de resultados adversos relacionados com a PE (Zeisler et al., 2016). Neste contexto, torna-se crucial encontrar métodos que padronizem o diagnóstico, prognóstico e a monitorização da progressão da doença, com o objetivo de prevenir desfechos adversos tanto para a mãe quanto para o filho (Stepan et al., 2016).

Nos últimos anos, foram realizados inúmeros estudos prospectivos e retrospectivos envolvendo gestantes, com o objetivo de identificar um biomarcador eficaz para prever o desenvolvimento da PE em mulheres suspeitas ou com elevado risco para a progressão da doença (Narkhede and Karnad, 2021; Tataru-Copos et al., 2022; Verlohren et al., 2022). Nesse sentido, vários marcadores têm sido avaliados na esperança de que os resultados obtidos evidenciem elevada sensibilidade e especificidade, tornando-os potenciais biomarcadores para o diagnóstico e a previsão de complicações adversas associadas à PE. Embora a determinação isolada do PLGF, da sEng ou do VEGF apresente atualmente promissoras perspectivas como biomarcadores, ainda são necessários alguns anos para que os estudos revelem a sua verdadeira eficácia nos casos de PE. Além disso, importa salientar que a quantificação analítica de um biomarcador, por si só, não deve ser considerada um critério de diagnóstico, mas sim integrada com outros dados clínicos e laboratoriais, de modo a obter um diagnóstico mais preciso.

De acordo com o mencionado em capítulos anteriores, durante a PE, observa-se um desequilíbrio na circulação de fatores angiogénicos, resultando em um aumento da razão sFlt-1/PLGF, em comparação com gestações consideradas saudáveis (Rana et al., 2012; Stepan et al., 2016).

Relembrando conceitos já mencionados anteriormente, em uma gravidez considerada saudável, a concentração de sFlt-1 aumenta continuamente a partir do 3º trimestre, enquanto os níveis séricos de PLGF começam a aumentar inicialmente, atingindo o pico a meio da gestação para, em seguida, começar a diminuir gradualmente até ao parto (Stepan et al., 2023). Na PE, o aumento prematuro dos níveis séricos de sFlt-1, acompanhado pela diminuição do PLGF, provoca um desequilíbrio angiogénico que se manifesta laboratorialmente cerca de 4 a 5 semanas antes das manifestações clínicas da doença (Stepan et al., 2023). Nesse sentido, a relação sFlt-1/PLGF parece desempenhar um papel útil como ferramenta para o diagnóstico e a previsão de distúrbios relacionados com a placenta, dos quais se inclui a PE e a RCF. Estas duas condições patológicas são, na verdade, as principais causas de partos prematuros (Stepan et al., 2023).

Diversos estudos realizados ao longo do tempo têm demonstrado que o valor preditivo da razão sFlt-1/PLGF pode variar de acordo com a prevalência da PE existente numa determinada população em estudo. Nesse contexto, uma prevalência mais elevada traduz-se num VPN ligeiramente inferior e num VPP ligeiramente superior (Zeisler et al., 2019).

Utilizando a metodologia de imunoensaio da *Roche Diagnostics*, diversos estudos de coorte prospectivos sugeriram possíveis valores de corte com o objetivo de auxiliar no diagnóstico precoce da PE (Diagnostics, 2022b, 2022a; Stepan et al., 2016). Estes valores podem variar consoante a fase gestacional em curso: antes da 34ª semana de gestação (PE de início precoce) ou a partir da 34ª semana de gestação até ao parto (PE de início tardio) (Diagnostics, 2022b, 2022a; Rana et al., 2012).

5.1 Razão sFlt-1/PLGF e Diagnóstico de Pré-Eclâmpsia - Sensibilidade e Especificidade Clínica

Um dos estudos de coorte, intitulado *Estudo Prospectivo Multicêntrico para o Diagnóstico da PE*, desenvolvido pela *Roche Diagnostics*, conseguiu evidenciar a eficácia do uso da razão sFlt-1/PLGF na determinação da sensibilidade e especificidade, utilizando os ensaios Elecsys sFlt-1 e PLGF (Diagnostics, 2022b, 2022a). Nesta pesquisa foram testadas aproximadamente 702 mulheres com gestação simples, das quais 468 apresentavam uma gravidez considerada saudável e 234, uma gravidez com PE ou síndrome de HELLP.

Independentemente da metodologia utilizada para a determinação do teste da razão sFlt-1/PLGF em uma grávida com PE de início precoce, é crucial que o teste demonstre uma sensibilidade elevada, a fim de evitar a perda de qualquer caso potencialmente grave. Por outro lado, a importância de descartar com precisão a PE em grávidas com sintomas inespecíficos também exige uma especificidade elevada. Ao aplicar o ponto de corte de 85, a especificidade de 99,5% classifica corretamente 199 das 200 gestantes consideradas saudáveis. Nesse contexto, com o objetivo de aprimorar a precisão do diagnóstico, por meio da razão sFlt-1/PLGF, foram sugeridos diferentes valores de corte, dependendo da fase gestacional testada (tabela 5.1) (Diagnostics, 2022b, 2022a; Stefan Verlohren et al., 2014).

Tabela 5.1 - Validação de diversos valores de corte obtidos a partir da razão sFlt-1/PLGF, dependendo da fase gestacional inicial ou tardia (Diagnostics, 2022b, 2022a).

Fase gestacional inicial (20 semanas a - <34s)			
	Razão sFlt-1/PLGF (pg/mL)	Sensibilidade, IC 95%	Especificidade, IC 95%
Valor de Corte de Exclusão	33	95,0%	94,0%
Valor de Corte de Inclusão	85	88,0%	99,5%
Fase gestacional tardia (≥ 34ªs – até ao parto)			
Valor de Corte de Exclusão	33	89,6%	73,1%
Valor de Corte de Inclusão	110	58,2%	95,5%

Este estudo, complementado com diversos outros que se seguiram posteriormente (Dathan-Stumpf et al., 2022; Ohkuchi et al., 2021; Rana et al., 2012; Stepan et al., 2016), levou às seguintes conclusões:

- A razão sFlt-1/PLGF é mais elevada nas gestantes diagnosticadas com PE, quando comparada com aquelas que têm uma gravidez considerada saudável (Stefan Verlohren et al., 2014).
- Na fase gestacional inicial, o valor de corte escolhido tinha como objetivo atingir uma sensibilidade e especificidade próxima dos 95%. Isso significa que, de acordo com a sensibilidade obtida para um valor de corte de 33, 95 em 100 grávidas foram diagnosticadas corretamente com PE (95%). A especificidade de 94% indica que aproximadamente 188 em 200 grávidas foram classificadas como não tendo PE (Stefan Verlohren et al., 2014).
Ainda na fase gestacional inicial, uma especificidade de 99,5% para um valor de corte de 85 significa que todas as 200 grávidas, exceto uma, foram classificadas como desenvolvendo uma gravidez considerada saudável (Stefan Verlohren et al., 2014).
- Ao combinar ambos os valores de corte, ≤ 33 / ≥ 85 , isso significa que 95 de 100 gestantes com PE foram diagnosticadas corretamente, enquanto 5 foram diagnosticadas incorretamente como não tendo PE (sensibilidade 95%). Seguindo o mesmo raciocínio, apenas uma grávida em 100 foi diagnosticada incorretamente como tendo PE (especificidade 99,5%) (Stefan Verlohren et al., 2014).
- Para a fase gestacional tardia, também foram sugeridos dois valores de corte de modo a maximizar a precisão do diagnóstico de PE. A combinação de ambos os valores de corte, 33 e 110, resultou em uma sensibilidade de 89,6% e uma especificidade de 95,5%, respectivamente (Stefan Verlohren et al., 2014).

5.2 Razão sFlt-1/PLGF e Prognóstico de Pré-Eclâmpsia a curto prazo

No âmbito dos estudos multicêntricos de prognóstico, destaca-se um em particular que se tornou amplamente conhecido por relacionar a razão sFlt-1/PLGF com o desenvolvimento da doença em mulheres suspeitas de PE. O estudo, intitulado *"Prediction of Short-Term Outcome in Pregnant Women with Suspected Preeclampsia Study (PROGNOSIS)"*, decorreu entre dezembro de 2010 e janeiro 2014 e teve como objetivo principal encontrar um valor de corte para a razão sFlt-1/PLGF, a partir do qual seria possível prever, a curto prazo, o desenvolvimento de PE em mulheres suspeitas. Este estudo prospetivo, duplamente-cego, não intervencionista e observacional (Dathan-Stumpf et al., 2022), decorreu em 14 países, abrangendo 30 locais distintos, e incluiu 1050 mulheres suspeitas de PE, a maioria caucasianas, todas com gestação única entre a 24^a à 36^a semana + 6 dias de gestação. Foram excluídas as mulheres com gravidez múltipla e todas aquelas que já possuíam o diagnóstico confirmado de PE ou a presença da síndrome de HELLP. Para obter resultados confiáveis, com a precisão desejada, foram estabelecidos dois grupos de estudo de corte; um de desenvolvimento (n= 500 gestantes) e outro de validação (n=550 gestantes) (Diagnostics, 2022b, 2022a; Zeisler et al., 2016).

A sensibilidade foi calculada com base no número de participantes em que a PE se desenvolveu dentro de uma, duas, três ou quatro semanas. Por outro lado, a especificidade foi calculada com base

no número de participantes nas quais a PE não se desenvolveu no mesmo período referenciado (tabela 5.2).

Tabela 5.2 - Validação de um valor de corte de 38 para a razão sFit-1/PLGF na previsão de pré-eclâmpsia em 1 semana. De modo a resumir a tabela, os índices de variabilidade inerentes ao VPN, VPP, sensibilidade e especificidade foram ocultados (Dathan-Stumpf et al., 2022; Diagnostics, 2022b, 2022a).

	Razão sFit-1/PLGF	VPP IC 95%	VPN IC 95%	Sensibilidade IC 95%	Especificidade IC 95%
Prognóstico PE a curto prazo Exclusão	≤ 38	-	99,3%	80,0%	78,3%
Prognóstico PE a curto prazo Inclusão	> 38	36,7%	-	66,2%	83,1%

De acordo com a tabela anterior, o elevado VPN associado ao valor de corte 38 na razão sFit-1/PLGF, permite descartar com segurança o desenvolvimento da PE no prazo de 1 semana após o teste. Este fato, quando colocado em prática, representa uma redução significativa do impacto econômico resultante da diminuição dos custos relacionados com saúde (Zeisler et al., 2016).

Adicionalmente, de acordo com a tabela 5.3, também foi calculado o valor preditivo negativo (VPN), com um intervalo de confiança de 95% (IC95%), na exclusão da PE em duas, três ou quatro semanas.

Tabela 5.3 - Validação de um valor de corte de 38 para a razão sFit-1/PLGF na previsão de pré-eclâmpsia em 2, 3 e 4 semanas. De modo a resumir a tabela, os índices de variabilidade inerentes ao VPN, VPP, sensibilidade e especificidade foram ocultados (Diagnostics, 2022b, 2022a; Zeisler et al., 2016).

	Exclusão de PE em 2 semanas	Exclusão de PE em 3 semanas	Exclusão de PE em 4 semanas
VPN	97,9%	95,7%	94,3%
Sensibilidade, IC95%	78,0%	70,0%	66,2%
Especificidade, IC95%	81,1%	82,4%	83,1%

O valor de corte 38 foi corroborado em estudos posteriores, nomeadamente o estudo PROGNOSIS Ásia, realizado em 35 locais da Ásia, entre 2014-2016, com a participação de 180 mulheres asiáticas suspeitas de PE. O estudo PROGNOSIS ÁSIA concluiu que, embora o VPN associado fosse ligeiramente menor em comparação com o estudo PROGNOSIS anterior, o valor de corte 38 permitia descartar com segurança o desenvolvimento da PE em 1 semana após o teste (Ohkuchi et al., 2021).

Outro estudo concluiu que, recorrendo à mesma metodologia Elecsys sFit-1 e Elecsys PLGF, a razão sFit-1/PLGF ≤ 38 transmitia ao clínico uma confiança bastante razoável em descartar o desenvolvimento da PE até 4 semanas após o teste, sobretudo quando combinado com outros dados clínicos e laboratoriais (Zeisler et al., 2019).

Por outro lado, se o resultado da razão sFit-1/PLGF se situar entre >38 - <85 ou <110 numa primeira determinação, um possível aumento da razão na semana seguinte pode significar risco iminente de PE e/ou um resultado fetal adverso nas próximas semanas. Por esse motivo, de modo a aprimorar a estratificação de risco de PE em mulheres suspeitas da doença, é recomendável realizar

um novo teste de acompanhamento após uma ou duas semanas, sobretudo se a primeira determinação estiver entre os valores 38 e 85 ou 110 (Zeisler et al., 2019).

Os gráficos de caixa que se seguem, resumem o desempenho do valor de corte 38 na razão sFlt-1/PLGF obtido no estudo PROGNOSIS ASIA (figura 5.1).

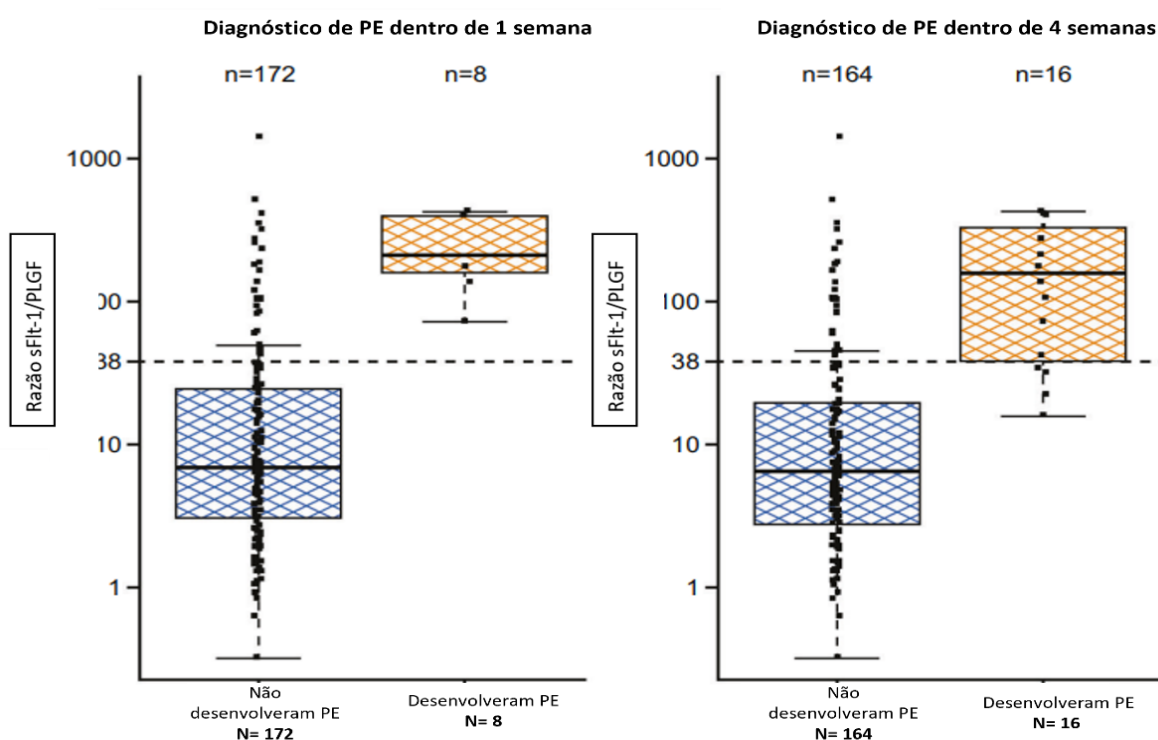


Figura 5.1 - Desempenho do valor de corte 38 da razão sFlt-1/PLGF na previsão da PE em uma semana e quatro semanas após a realização do teste - A caixa azul, correspondente ao grupo que não desenvolveu PE, demonstra que o valor de corte 38 permitiu descartar com segurança o desenvolvimento da doença em uma semana. No entanto, para o diagnóstico de PE em quatro semanas, a aplicação do mesmo valor de corte, embora também um VPN elevado, também revela uma maior probabilidade de falsos negativos, devido aos casos observados próximos e abaixo do valor de corte 38 (menor sensibilidade). As caixas representam a mediana e a amplitude interquartil; a extremidade inferior representa o maior valor da razão mínima obtida e o quartil 25 até 1,5× a amplitude interquartil, enquanto a extremidade superior representa o menor valor da razão máxima obtida e o quartil 75 até 1,5× a amplitude interquartil, em escala logarítmica (Ohkuchi et al., 2021).

Ambos os estudos e PROGNOSIS e PROGNOSIS ASIA empregaram os imunoensaios Elecsys sFit-1 e PLGF para determinar a razão sFit-1/PLGF. É importante ressaltar que o ponto de corte ideal da relação sFit-1/PLGF para prever a PE pode variar entre diferentes imunoensaios de outros fabricantes (Ohkuchi et al., 2021).

Apesar de algumas pequenas diferenças nos critérios de inclusão para o estudo de corte japonês, as características iniciais deste estudo (PROGNOSIS ASIA) foram relativamente semelhantes às da população em geral (PROGNOSIS), incluindo uma prevalência semelhante de PE (13,3% e 14,4%, respectivamente) (Ohkuchi et al., 2021).

De modo a consolidar as conclusões anteriormente mencionadas, a tabela 5.4 apresenta diversas medidas utilizadas na avaliação da precisão resultante da utilização do valor de corte 38 na previsão da PE a curto prazo (Ohkuchi et al., 2021).

Tabela 5.4 - Desempenho da razão sFit-1/PLGF, com base nos resultados do estudo PROGNOSIS ASIA, com a aplicação do valor de corte 38 para a previsão da PE a curto prazo. Os índices de variabilidade relacionados com a sensibilidade e especificidade foram ocultados para resumir a tabela. Para uma amostra de 180 grávidas, embora o VPN seja elevado, as taxas de falsos negativos e verdadeiros positivos aumentaram consideravelmente para a previsão da PE em quatro semanas. Em ambos as situações, é possível afirmar que, de acordo com a metodologia utilizada, a aplicação do valor de corte 38 apresenta uma capacidade razoável em identificar corretamente os casos negativos (especificidade) (adaptado de Ohkuchi et al., 2021).

Legenda: PE – Pré-Eclâmpsia; IC – Intervalo de confiança; VN: Verdadeiros negativos; FN- Falsos negativos; VP- Verdadeiros positivos; FP- Falsos positivos; VPN- Valor preditivo negativo; VPP- Valor preditivo positivo

^{a)} O valor de corte ≤ 38 da razão sFit-1/PLGF foi utilizado para descartar a PE em uma semana após o teste

^{b)} O valor de corte > 38 da razão sFit-1/PLGF foi usado para incluir a PE em 4 semanas após o teste.

PE	VN / FN	VP / FP	VPN (IC 95%)	VPP (IC 95%)	Sensibilidade IC 95%	Especificidade IC 95%
Em 1 semana	143 / 0	8 / 29	100 (97,5-100) ^a	21,6 (9,8-38,2)	100	83,1
Em 4 semanas	139 / 4	12 / 25	97,2 (93,0-99,2)	32,4(18,0-49,8) ^b	75,0	84,8

5.3 Razão sFlt-1/PLGF e Previsão de Resultados Materno-Fetais Adversos

Um estudo prospetivo que decorreu no México, onde a prevalência da PE é mais elevada, comparou os níveis séricos da razão sFlt-1/PLGF com as características clínicas de 810 grávidas com diagnóstico prévio de PE. As mulheres foram divididas em três grupos distintos de acordo com o grau de desequilíbrio angiogénico obtido: 284 gestantes sem desequilíbrio angiogénico (≤ 38 razão sFlt-1/PLGF), 102 gestantes com leve desequilíbrio angiogénico ($>38 - \leq 85$ razão sFlt-1/PLGF) e 424 gestantes com grave desequilíbrio angiogénico (≥ 85 razão sFlt-1/PLGF). Este estudo permitiu obter as seguintes conclusões (Alfredo Leanós-Miranda et al., 2020):

- Das 284 mulheres com razão sFlt-1/PLGF ≤ 38 , todas foram diagnosticadas erroneamente com PE, sendo que apenas 6 desenvolveram PE nos 28 dias seguintes à realização do teste. A maioria, tinha comorbilidades prévias, como a HTA crónica (algumas das quais grave), diabetes mellitus, doença renal crónica, aborto espontâneo, proteinúria falsamente significativa e obesidade prévia. Não ocorreram complicações materno-fetais (Alfredo Leanós-Miranda et al., 2020).
- Das 102 gestantes com razão sFlt-1/PLGF $>38 - \leq 85$, cerca de 90 foram mal diagnosticadas com PE, 5 tinham verdadeira PE (porém, sem critérios de gravidade) e apenas 43 mulheres vieram a desenvolver PE em 7, 13 e 28 dias. Cerca de 3 gestantes revelaram PE sobreposta à HTA crónica e 83 dos casos tinham diabetes gestacional. Não ocorreram complicações materno-fetais significativas (Alfredo Leanós-Miranda et al., 2020).
- Das 424 grávidas com razão sFlt-1/PLGF ≥ 85 , apenas 66 não tinham PE e 171 acabaram por desenvolvê-la em 7, 13 e 28 dias. Cerca de 340 casos foram de PE com critérios de gravidade, dos quais 41 apresentaram PE sobreposta à HTA crónica. Cerca de 327 dos partos, a maioria por cesariana, ocorreram antes da 34ª semana de gestação. A título de curiosidade, os níveis séricos médios de sFlt-1 foram 11.498 pg/mL e o PLGF 40.9 pg/mL, resultando numa média de razão sFlt-1/PLGF de 283,2 (Alfredo Leanós-Miranda et al., 2020). Foram registados 198 casos de complicações materno-fetais, isoladas e/ou combinadas, tais como eclâmpsia, síndrome de HELLP, edema pulmonar, hemorragia cerebral, descolamento prematuro da placenta, RCF, hemorragia intraventricular fetal e morte fetal (Alfredo Leanós-Miranda et al., 2020).

Este estudo concluiu que os erros de diagnóstico, muito deles relacionados a uma sintomatologia pouco clara, são mais frequentes em gestantes que apresentam uma razão sFlt-1/PLGF ≤ 38 . As consequências desses erros incluem principalmente internamentos e induções de partos desnecessários, além de provocar angústia e ansiedade desnecessárias nas gestantes, resultando em um elevado impacto económico na saúde (Alfredo Leanós-Miranda et al., 2020).

Outra conclusão, já abordada anteriormente, está relacionada com a alta incidência de complicações materno-fetais em gestantes com valores de razão sFlt-1/PLGF ≥ 85 , sobretudo quando a idade gestacional é ≤ 34 ª semana de gestação (Alfredo Leanós-Miranda et al., 2020; Stepan et al., 2023). De facto, independentemente da semana gestacional, resultados muitos elevados da razão sFlt-

1/PLGF revelam-se úteis na previsão a curto prazo de complicações materno-fetais resultantes da PE, podendo exigir internamento hospitalar com decisões clínicas adequadas (Verlohren et al., 2022).

A inclusão da razão sFlt-1/PLGF pode revelar-se uma ferramenta útil no diagnóstico da PE, com o principal objetivo de prolongar a gestação, melhorar os resultados e reduzir o impacto económico na saúde (Alfredo Leanões-Miranda et al., 2020; Stepan et al., 2023).

O *Preeclampsia Integrated Estimate of Risk* (FullPIERS) é um modelo de predição desenvolvido por quatro países (Canadá, Nova Zelândia, Austrália e Reino Unido) e validado externamente. Esse modelo tem como objetivo calcular percentualmente o risco para o desenvolvimento de complicações maternas graves relacionadas à PE (Von Dadelszen et al., 2011). O FullPIERS visa estimar o risco de complicações que possam ameaçar ou colocar em risco a vida da grávida com PE nas primeiras 48 horas até o fim dos primeiros 7 dias, após a admissão hospitalar. A estimativa do risco é calculada com base na idade gestacional e em sinais clínicos e laboratoriais, como saturação de oxigénio, contagem de plaquetas, creatinina e AST. Embora interessante, este modelo apresenta algumas limitações que inclui a falta de consideração de outros critérios relevantes para a estimativa do risco bem como a ausência da avaliação do risco neonatal (Kumar et al., 2023; Von Dadelszen et al., 2011).

5.4 Razão sFlt-1/PLGF e Previsão do Tempo de Gestação até ao Parto

Uma análise posterior ao estudo *PROGNOSIS* demonstrou que a aplicação do valor de corte superior a 38 na razão sFlt-1/PLGF estava associado a um tempo de gestação mais curto e a um aumento do risco de parto pré-termo. A probabilidade estatística foi cerca de 2,9 vezes maior do que aquelas que apresentam valores de razão inferior a 38 (Diagnostics, 2022b, 2022a; Zeisler et al., 2016). Conclui-se ainda que, para as mulheres com valores de razão sFlt-1/PLGF > 38, a média do período de gestação restante até ao parto foi de cerca de duas semanas, resultando em uma taxa de nascimentos pré-termo de 71,2%. Por outro lado, aquelas que tinham valores < a 38 conseguiram manter, em média, a gestação por mais 51 dias, com uma taxa de nascimentos pré-termo 17,8% (Diagnostics, 2022b, 2022a; Zeisler et al., 2016).

Outros estudos permitiram concluir que quanto maior o desequilíbrio angiogénico, menor o tempo de gestação restante, muitas vezes resultando na necessidade de indução do parto prematuro (Alfredo Leanões-Miranda et al., 2020). Com efeito, estudos relataram que, quando a razão sFlt-1/PLGF é ≥ 85 , ela apresenta uma sensibilidade de 72,9% e uma especificidade de 94% para o desenvolvimento de complicações materno-fetais, das quais se inclui o parto prematuro em grávidas com gestações inferiores à 34ª semana de gestação (Rana et al., 2012).

Devido à natureza imprevisível dos resultados adversos, a decisão de optar pelo parto prematuro iatrogénico em grávidas com PE de início precoce depende da análise do risco estimado de um resultado adverso, ponderado em relação ao benefício considerável para o feto caso a gravidez seja prolongada. Decidir avançar para o parto em mulheres com elevado risco de complicações após a 34ª semana de gestação, uma vez completada a maturação pulmonar do feto, pode trazer benefícios tanto para a mãe quanto para o filho. Nesta fase, os resultados neonatais geralmente são positivos, e a principal causa de problemas, a placenta, é eliminada da equação (Rana et al., 2012).

Conforme mencionado anteriormente, embora haja estudos que relacionem o resultado da razão sFlt-1/PLGF ao momento do parto, a decisão não deve ser tomada exclusivamente com base nesse resultado, mas sim em harmonia com todas as informações clínicas disponíveis sobre a paciente e do feto. São necessários mais estudos para investigar o uso da razão sFlt-1/PLGF nas decisões relacionadas ao parto (Verlohren et al., 2022).

5.5 Razão sFlt-1/PLGF e os Vários Distúrbios Hipertensivos durante a Gravidez

Um estudo prospectivo conduzido entre 2009 e 2010, que envolveu 616 mulheres grávidas suspeitas de PE (Rana et al., 2012), observou que as participantes diagnosticadas com hipertensão gestacional apresentaram uma razão sFlt1/PLGF moderadamente elevada. Por outro lado, as participantes com PE exibiram uma razão sFlt1/PLGF marcadamente elevada, sobretudo quando comparada com as restantes participantes, sem qualquer distúrbio hipertensivo. Este estudo, realizado no México (Alfredo Leanós-Miranda et al., 2020), concluiu que, das 102 gestantes com razão sFlt-1/PLGF $>38 - \leq 85$, cerca de 83 foram diagnosticadas com hipertensão gestacional. Nestes casos, a proteinúria geralmente era pouco expressiva, podendo ocasionalmente apresentar níveis mais elevados. Além disso, o estudo também revelou que gestantes com HTA crônica frequentemente manifestavam sinais e sintomas sugerindo o desenvolvimento de PE, apesar do desequilíbrio angiogénico correspondente ser baixo ou mesmo inexistente (Alfredo Leanós-Miranda et al., 2020).

5.6 Determinação da Razão sFlt-1/PLGF versus Determinação Isolada de sFlt-1 e PLGF

De acordo com o já referido, os níveis de PLGF diminuem precocemente na PE e na RCF (Danielli et al., 2022). Diversos estudos foram desenvolvidos para avaliar a sensibilidade e especificidade da determinação isolada do PLGF em comparação com a razão sFlt-1/PLGF (Stepan et al., 2016). Ao ser comparado com a razão sFlt-1/PLGF, os níveis de PLGF exibem sensibilidade semelhante, mas uma especificidade menor. Isso implica que a determinação isolada do PLGF revele uma taxa de falsos positivos mais elevada (Danielli et al., 2022). Embora ambos os testes pareçam ter uma precisão diagnóstica comparável, a definição de valores de corte específicos para a razão sFlt-1/PLGF (85 para a PE de início precoce e 110 para os casos de PE de início tardio), aumenta a confiança do clínico ao considerar ou descartar uma possível PE. Essa conclusão oferece maior utilidade diagnóstica na prática clínica (Stepan et al., 2016). No entanto, outros estudos (Stepan et al., 2023), sugeriram que concentrações baixas de PLGF permitem prever, com razoável sensibilidade (86,8%), a ocorrência de resultados materno-fetais adversos e antecipar o desenvolvimento da PE com recurso ao parto em 14 dias após o teste. É importante ter em conta que, dependendo da metodologia utilizada, na PE de início precoce, as concentrações séricas de PLGF podem ser tão baixas que ficam abaixo da linearidade do método, questionando a sua utilidade no prognóstico da PE de início precoce (Stepan et al., 2023).

Perante alguma controvérsia sobre as vantagens do uso do PLGF no diagnóstico da PE, o relatório NICE publicado em 2022, revelou que a determinação do PLGF é muito útil para ajudar na tomada de decisões clínicas, particularmente em grávidas que já apresentavam hipertensão ou

proteinúria antes de engravidar. O comitê em causa determinou que os resultados dos testes baseados em PLGF devem ser usados em conjunto com informações clínicas para a tomada de decisões.

Dos estudos, concluiu-se ainda que o sFlt-1, quando avaliado isoladamente, é inconsistente, uma vez que os seus níveis circulatórios nem sempre refletem a sua concentração e ação sobre o desenvolvimento da placenta (Danielli et al., 2022; Stepan et al., 2023).

5.7 Razão sFlt-1/PLGF e Gravidez Múltipla

Estudos recentes sugerem que a razão sFlt-1/PLGF pode ser utilizada para prever a PE em gestações múltiplas. No entanto, para melhorar o desempenho, devem ser aplicados valores de corte diferentes dos utilizados para as gestações únicas (De La Calle et al., 2021; Stepan et al., 2023; Verlohren et al., 2022).

Embora sejam necessário realizar mais pesquisas, já se sabe que as gestantes com mais de um feto têm o dobro de probabilidade de desenvolver PE (De La Calle et al., 2021). O motivo por detrás deste fato, provavelmente está relacionado com a massa placentária e o volume sanguíneo nas gestações múltiplas, que são maiores em comparação com gestações únicas.

Uma pesquisa comparou os níveis de sFlt-1, PLGF e a razão sFlt-1/PLGF em três estudos envolvendo gestações únicas, juntamente com um estudo piloto que incluiu 269 mulheres com gestações múltiplas, nas quais esses mesmos parâmetros analíticos foram determinados. Utilizando a metodologia de *imunoensaio Elecsys® sFlt-1/PIGF*, observou-se que, embora a progressão da razão sFlt-1/PLGF nas duas situações (gravidez múltipla versus gravidez única) seja idêntica até à 28ª semanas de gestação + 6 dias, a partir desta semana, o sFlt-1 começa a aumentar consideravelmente nas gestações múltiplas (De La Calle et al., 2021; Verlohren et al., 2022). O aumento do sFlt-1 a partir deste período, mesmo perante níveis séricos de PLGF sensivelmente idênticos aos comparados com as gestações únicas, resulta no aumento da razão sFlt-1/PLGF que se verifica nas gestações múltiplas. Por esse motivo, concluiu-se que a aplicação do valor de corte 38 da razão sFlt-1/PIGF deixa de ser útil para prever o desenvolvimento da PE num curto espaço de tempo em gestações múltiplas, a partir da 29ª semana de gestação (inclusive) até ao parto (De La Calle et al., 2021).

Como a falha no diagnóstico de PE pode trazer sérias consequências clínicas, torna-se crucial adotar valores de corte que ofereçam um VPN elevado na avaliação de grávidas com suspeita de PE. Face ao exposto, conclui-se que são necessários estudos adicionais que visem determinar quais os valores de corte a aplicar à razão sFlt-1/PLGF para auxiliar na previsão da PE em mulheres com gestações múltiplas (De La Calle et al., 2021).

5.8 Razão sFlt-1/PLGF e Predição de Restrição de Crescimento Fetal e Parto Prematuro

Diversas etiologias podem estar na origem da RCF e do parto prematuro. Como mencionado anteriormente, nem todas as situações de PE envolvem RCF ou o parto prematuro, assim como nem todos os casos de RCF e parto prematuro estão relacionados com a PE. No entanto, é importante salientar que, dum modo geral, a disfunção placentária grave está fortemente associada à RCF e ao parto prematuro (Stepan et al., 2023). Ambas as complicações fetais decorrem frequentemente em conjunto com a PE e, embora o perfil angiogénico possa ser semelhante em todos os casos, o uso dos biomarcadores sFlt1/PLGF não conseguem diferenciar as diferentes patologias. Para isso, são necessárias outras ferramentas adicionais, como o doppler da artéria umbilical, entre outras (Stepan et al., 2023).

Na RCF, é frequente assistir-se à diminuição dos níveis séricos de PLGF logo desde o primeiro trimestre, especialmente quando comparado com uma gravidez considerada saudável com a mesma idade gestacional. Perante este fato, a utilidade da determinação do PLGF é semelhante à razão sFlt-1/PLGF, sendo ambos úteis na previsão de nascimentos de bebés patologicamente menores do que o esperado para a sua idade gestacional (Stepan et al., 2023).

Conforme mencionado anteriormente, quanto maior o desequilíbrio angiogénico, mais elevada a razão sFlt-1/PLGF e consequentemente, maior o risco de parto prematuro, seja espontâneo ou iatrogénico (Rana et al., 2012).

6 ORIENTAÇÕES PARA O USO DA RAZÃO sFlt-1/PLGF NO DIAGNÓSTICO E MONITORIZAÇÃO DA PRÉ-ECLÂMPSIA

Atualmente já existem várias recomendações sobre o uso da razão sFlt-1/PLGF. Em 2022, o *National Institute for Health and Care Excellence* (NICE), no Reino Unido, publicou diretrizes sobre a utilização da razão sFlt-1/PLGF em mulheres suspeitas de PE. Importa destacar que nos últimos anos, este país conseguiu reduzir drasticamente as complicações causadas pela doença, principalmente através de um diagnóstico precoce e tratamento adequado (Findlay et al., 2022; Stepan et al., 2023). O investimento em diretrizes e recomendações direcionados para os cuidados clínicos, prioridades em pesquisas e organização de serviços foram considerados os principais responsáveis pelo sucesso que o Reino Unido apresenta no combate precoce às doenças hipertensivas na gestação, das quais se destaca a PE (Costa et al., 2022).

Em outros países, embora existam diretrizes clínicas internacionais que sugerem a integração dos biomarcadores angiogénicos na prática clínica da PE, atualmente ainda não há um consenso claro sobre a sua utilidade, pelo que se assiste à demora da sua inclusão nos protocolos de saúde locais.

Perante um vasto conjunto de sinais e sintomas que possam indiciar o desenvolvimento da PE, o seu diagnóstico nem sempre é fácil, sobretudo nas fases iniciais da doença. Perante este facto, é necessário implementar normas específicas que permitam aos clínicos estratificar o risco entre as grávidas com suspeita de PE. Após o diagnóstico de PE, também é importante desenvolver orientações que permitam auxiliar na previsão de complicações materno-fetais decorrentes da PE (Vaz-de-Macedo and Clode, 2017).

Convém destacar que, embora a utilidade do teste da razão sFlt-1/PLGF apresente vantagens quase que irrefutáveis, ele não substitui os critérios clínicos predefinidos para o diagnóstico da PE. A sua utilidade deve ser encarada como um elemento adicional que, em conjunto, contribui para o diagnóstico, prognóstico e monitorização da PE (Costa et al., 2022).

As recomendações que se seguem conciliam a prática clínica no polo MAC e as recomendações desenvolvidas após uma reunião com especialistas internacionais, em 2021, que teve o objetivo de orientar os clínicos no uso da razão sFlt-1/PLGF perante os casos de PE (Costa et al., 2022; Verlohren et al., 2022).

6.1 Uso da razão sFlt-1/PLGF e Interpretação Clínica dos Resultados Obtidos

O teste da razão sFlt-1/PLGF deve ser utilizado nos seguintes cenários (Verlohren et al., 2022):

- Grávidas com elevado risco para o desenvolvimento da PE;
- Grávidas com características clínicas suspeitas de PE (ainda não confirmada);
- Diferenciação da PE com outras patologias com sinais clínicos e laboratoriais sobreponíveis;
- No acompanhamento da avaliação da disfunção placentária e na orientação na decisão clínica das grávidas diagnosticadas com PE;

Perante um determinado caso clínico, o resultado da razão sFlt-1/PLGF pode revelar-se pertinente e contribuir para um diagnóstico preciso e orientar as decisões clínicas a serem tomadas perante a paciente (Stepan et al., 2023). Neste contexto, serão apresentados diversos cenários clínicos relacionados com a aplicação de valores de corte da razão sFlt-1/PLGF.

6.1.1 Abordagem Clínica em Grávidas Sem Características Clínicas Sugestivas de Pré-Eclâmpsia e Resultado de Razão sFlt-1/PLGF < 38

Em geral, as grávidas sem características clínicas de PE não devem ser testadas, a menos que sejam consideradas de alto risco para a PE. Um resultado < 38 é muito reconfortante, tanto para o clínico quanto para a grávida, uma vez que a probabilidade de desenvolver PE é de apenas 2% (Herraiz et al., 2018). Atualmente ainda há poucos estudos que avaliem o desempenho do teste da razão sFlt-1/PLGF em grávidas assintomáticas de alto risco. Para estas grávidas, é recomendável efetuar o teste da razão sFlt-1/PLGF uma vez por mês após a 20ª semana de gestação (Verlohren et al., 2022)

Ainda são muitos os países que não aplicam uma abordagem combinada na triagem da PE em grávidas que se encontram no primeiro trimestre e que podem vir a desenvolver a doença posteriormente. A maioria dos locais apenas identifica grávidas de alto risco com base na sua história clínica (Stepan et al., 2023) (consultar capítulo 2, referente aos fatores de risco da PE).

Uma das abordagens mais abrangentes para o rastreio da PE em grávidas do primeiro trimestre foi desenvolvida pelo *The fetal Medicine Foundation* (FMF), no Reino Unido. Esse modelo, validado em dois grandes estudos multicêntricos, desenvolveu um algoritmo que envolve um conjunto de procedimentos e cálculos matemáticos que determinam o risco de uma grávida vir a desenvolver PE. Este algoritmo utiliza uma combinação de informações clínicas como a idade materna, histórico clínico, média da TA (MAP, do inglês “mean arterial pressure”), índice da pulsatilidade das artérias uterinas e PLGF (Verlohren et al., 2022). A *Federação Internacional de Ginecologia e Obstetria* (FIGO) também recomenda rastrear todas as grávidas no início da gravidez, tendo em consideração tanto os fatores de risco clínicos quanto o PLGF (Stepan et al., 2023). Caso se verifique alterações persistentes no doppler uterino na 26ª semana de gestação, face a uma razão sFlt-1/PLGF < 38, é altamente improvável que a PE ou a RCF se desenvolvam nas próximas 4 semanas, embora cerca de 30% das grávidas possam desenvolver essas condições mais tarde (Herraiz et al., 2018).

6.1.2 Abordagem Clínica em Grávidas com Características Clínicas Sugestivas de Pré-Eclâmpsia e Resultado de Razão sFlt-1/PLGF < 38

As grávidas entre a 20ªs – 36ª semana de gestação + 6 dias, que apresentem sintomas sugestivos de PE mas testes negativos para o seu diagnóstico (ausência de proteinúria e/ou lesão de órgãos-alvo), devem efetuar um teste sFlt-1/PLGF (Costa et al., 2022). Nestes casos, um resultado de razão <38 pode proporcionar alívio, na medida em que sugere um risco reduzido de desenvolvimento eminente de PE nas próximas 4 semanas após o teste. No entanto, a gestão individual da grávida também depende de outros fatores como a HTA ou o resultado do doppler uterino. Se houver preocupações com o feto, a vigilância médica pode ser realizada em menos de 2 semanas, com recurso a nova testagem da razão sFlt-1/PLGF. Não havendo novos sintomas, deve ser adotado o regime

ambulatorial, com medições remotas de PA (Verlohren et al., 2022). No caso de surgir um novo sintoma suspeito de PE, deve ser efetuada uma nova investigação clínica, mesmo diante de valores < 38 no teste da razão (Costa et al., 2022).

6.1.3 Abordagem Clínica em Grávidas Com Resultado de Razão sFlt-1/PLGF de 38-85 (< 34ª semana de gestação) e 38-110 (> 34ª semana de gestação)

Estes grupos de mulheres são considerados de maior risco, pelo que as grávidas devem ser informadas sobre todos os sinais e sintomas que possam surgir e que exigem nova avaliação médica imediata (Verlohren et al., 2022). No entanto, devido ao baixo VPP associado a estes valores de corte, o diagnóstico de PE não deve ser basear-se exclusivamente no resultado do teste da razão (Costa et al., 2022).

Nestas situações, os critérios para internamento englobam a presença de sinais clínicos e laboratoriais evidentes do desenvolvimento de PE e/ou suspeita de comprometimento fetal, independentemente do resultado da razão sFlt-1/PLGF. Estes critérios de diagnóstico clínico e laboratorial já foram mencionados em capítulos anteriores e englobam eventuais alterações no doppler uterino (Verlohren et al., 2022).

Nos casos em que as grávidas apresentam um resultado de razão sFlt-1/PLGF situado entre 38 – 85, devem ser implementadas medidas adicionais da vigilância médica, sobretudo se ainda faltar mais de 17 dias para a previsão do parto e as grávidas estiverem em regime de ambulatório. Diante deste resultado, a grávida deve realizar medições diárias de PA e repetir o teste em 1 ou 2 semanas, para avaliar se houve alterações nos níveis séricos dos biomarcadores (Verlohren et al., 2022). A repetição do teste da razão sFlt-1/PLGF, na ausência de novos sinais e sintomas sugestivos de PE, é motivo de alguma controvérsia na comunidade académica. Alguns especialistas defendem que uma grávida suspeita que já tenha efetuado o teste não o deve repetir, sendo preferível o acompanhamento e a avaliação segundo os exames de rotina previamente estabelecidos em protocolo (Costa et al., 2022). Porém, caso a situação clínica piore, todos os especialistas recomendam uma nova testagem imediata (Costa et al., 2022; Verlohren et al., 2022). A taxa de variação entre as duas medições (delta), com um intervalo de duas semanas também desempenha um papel importante (Zeisler et al., 2019). Estudos mostraram que grávidas que desenvolvem PE geralmente apresentam um delta na relação entre as duas medições significativamente maior em comparação com aquelas que não desenvolvem a condição (Zeisler et al., 2019). Esses estudos, também permitiram concluir que a diferença entre duas testagens representa um marcador importante para a progressão da PE, especialmente se ocorrer em um curto espaço de tempo. Nestes contextos, há uma forte sugestão de deterioração da situação clínica, especialmente nos casos de PE de início precoce e/ou disfunção placentária. Além disso, um delta mais elevado, pode indicar uma redução no tempo restante até ao parto, bem como de resultados adversos para a mãe e o feto (Zeisler et al., 2019). No entanto, este tema é controverso, pois alguns especialistas defendem que, excetuando em ambientes de investigação, o teste da razão sFlt-1/PLGF não deve ser realizado em mulheres que já tenham recebido um diagnóstico consolidado de PE (Costa et al., 2022).

6.1.4 Abordagem Clínica em Grávidas com Resultado de Razão sFlt-1/PLGF >85 (< 34ª semana de gestação) e > 110 (> 34ª semana de gestação)

As grávidas que se encaixam neste grupo, especialmente se estiverem numa fase gestacional < 34ª semana de gestação, enfrentam um maior risco de desenvolver PE grave em duas semanas (Rana et al., 2018). Por esta razão, a hospitalização deve ser considerada após a devida integração do valor do teste nos restantes critérios de diagnóstico para a PE, uma vez que só desta forma, é possível acompanhar e monitorizar a evolução do estado de saúde materno-fetal, consolidando assim um eventual processo de tomada de decisão clínica, geralmente complexo. Se houver sinais evidentes de um agravamento do quadro de PE e/ou comprometimento fetal, as grávidas devem ser internadas, de modo a assegurar uma intervenção médica imediata e o acompanhamento constante do estado de saúde da mãe e do bebé, visando a minimização de riscos e a garantia de cuidados adequados. Nestas situações, sob nenhuma circunstância, o teste da razão sFlt-1/PLGF deve atrasar a gestão clínica emergente (Costa et al., 2022). Uma vez internadas com PE de início precoce, são poucas as pacientes que regressam ao regime ambulatorial (Verlohren et al., 2022).

Uma razão sFlt-1/PLGF > 200 geralmente é bastante sugestivo de maior risco de complicações fetais e, na presença de RCF, a tendência é crescente embora mais estável. Nestas situações, a maioria das gestantes acaba por ser hospitalizada devido a parâmetros clínicos que comprometem o desenvolvimento fetal (Verlohren et al., 2022).

6.1.5 Abordagem Clínica em Grávidas com Outras Patologias com Sinais Clínicos e Laboratoriais Sobreponíveis à Pré-Eclâmpsia

Existem determinadas doenças que podem estar presentes ou surgir durante a gravidez e que simulam a PE devido às suas características clínicas e laboratoriais. Isso pode levar a um tratamento inadequado da patologia em curso, além do aumento de recursos humanos, tecnológicos e económicos. Entre estas condições, para além da HTA crónica e da HTA gestacional, as que mais mimetizam a PE ou o início da síndrome de HELLP, incluem as enxaquecas ou dores de cabeça persistentes, trombocitopenia não-HELLP, doença renal preexistente, síndrome hemolítico urémico, fígado gorduroso agudo da gravidez, lúpus eritematoso sistémico, síndrome de anticorpo antifosfolípido, hepatite viral, entre outros (Narkhede and Karnad, 2021; Verlohren et al., 2022). Em todos estes casos, a determinação da razão sFlt-1/PLGF pode ajudar a distinguir a PE grave e ser útil no diagnóstico diferencial de condições que apresentam sintomas sobrepostos (Verlohren et al., 2022). Muitas doenças autoimunes, para além de mimetizarem a PE, também revelam maior risco de a desenvolverem, o que significa que essas gestantes devem ser submetidas a uma maior vigilância do bem-estar materno-fetal desde o início da gravidez, com monitorização clínica frequente, que inclui, por exemplo, a medição da TA ou a avaliação da resistência da artéria uterina entre a 20ª-22ª semana de gestação (Verlohren et al., 2022). Quando há características clínicas sobrepostas à PE, a razão sFlt-1/PLGF pode auxiliar na diferenciação da disfunção placentária face às complicações relacionadas com as doenças autoimunes. Se, por exemplo, uma grávida apresentar o aumento da resistência da artéria uterina entre a 20ª-22ª semana de gestação, ela deverá ser reavaliada duas a três semanas depois;

dependendo dos sintomas apresentados. No momento da reavaliação, se o doppler continuar a revelar alterações, sugere-se a repetição da razão sFlt-1/PLGF. Em suma, este teste deve ser sempre efetuado em grávidas com doenças autoimunes, desde que haja suspeita de PE ou aumento da resistência da artéria uterina entre a 20^a-22^a semana de gestação (Verlohren et al., 2022).

A influência da infeção SARS-CoV-2 no diagnóstico da PE ainda permanece obscura, uma vez que não há ensaios clínicos em número suficiente que permitam retirar conclusões consolidadas. No entanto, parece haver evidências de que grávidas com infeção grave por SARS-CoV-2 podem desenvolver um mecanismo fisiopatológico semelhante à PE (Serrano et al., 2023). Embora as gestantes com PE verdadeira, com disfunção placentária, apresentem resultados significativamente piores do que as afetadas pela Covid-19 e pela síndrome semelhante à PE, sugere-se o uso da razão sFlt-1-/PLGF para diferenciar ambas as situações e permitir ao clínico tomar decisões clínicas adequadas (Serrano et al., 2023).

Em termos práticos, a integração da razão sFlt-1/PIGF parece emergir como uma ferramenta valiosa para auxiliar os profissionais de saúde a determinar se os sintomas de uma paciente grávida estão relacionados com a PE ou com outras condições médicas que possam apresentar sintomas semelhantes. Esta razão desempenha um papel importante na avaliação clínica e na precisão do diagnóstico diferencial (Stepan et al., 2023; Verlohren et al., 2022). O esquema que se segue (fig. 6.1), resume a gestão clínica para o uso da razão sFlt-1/PLGF nos casos suspeitos de PE.

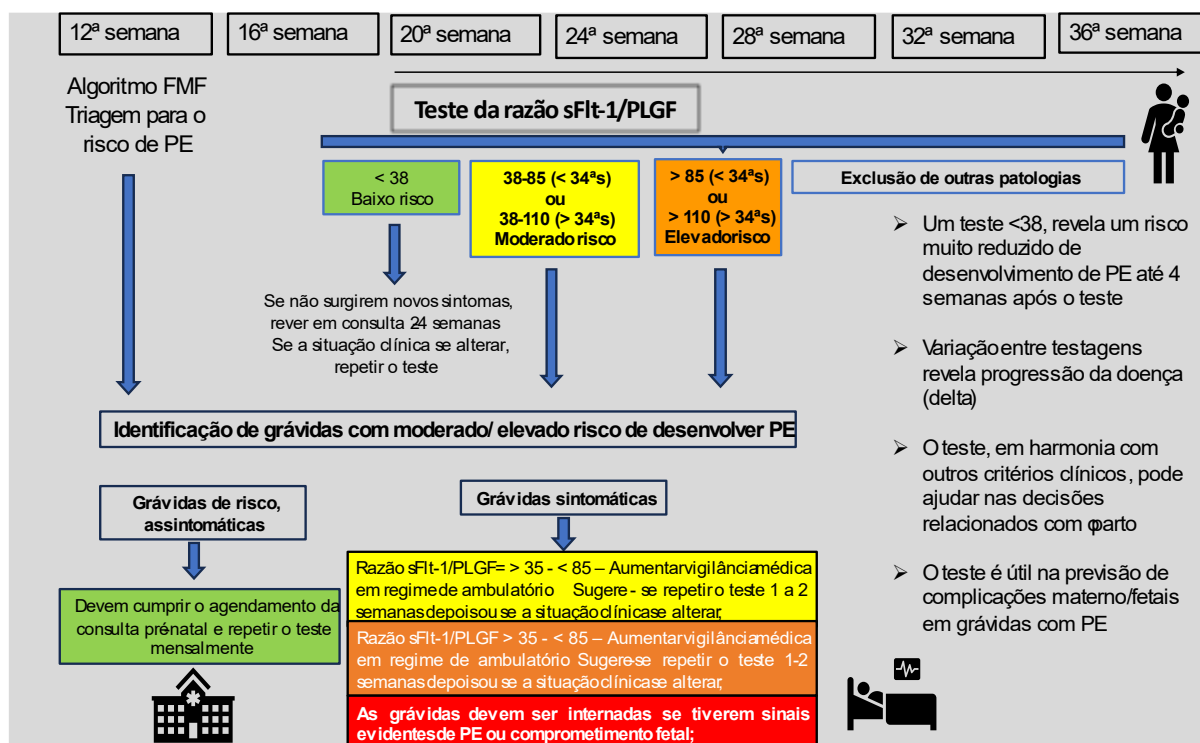


Figura 6.1 - Esquema sugestivo que resulta da conclusão de diversos relatórios internacionais que tiveram como objetivo auxiliar na definição de um protocolo de orientação para o uso da razão sFlt-1/PLGF na prática clínica relacionada com o diagnóstico de grávidas suspeitas de PE.

Acima, os diversos períodos mencionados referem-se às diferentes semanas de gestação.

Legenda: (<38, >38, >85, >110) - valor do teste da razão sFlt-1/PLGF / (<34ªs, >34ªs) - 34ª semana de gestação / PE- Pré-Eclâmpsia (Costa et al., 2022; Verlohren et al., 2022).

6.2 Atual Abordagem Clínica da razão sFlt-1/PLGF no Polo Maternidade Dr. Alfredo da Costa

Em Portugal, o teste da razão sFlt-1/PLGF já é utilizado em alguns contextos clínicos para auxiliar no diagnóstico da PE, embora ainda não se encontre integrado nos protocolos clínicos de rotina para o rastreio da PE em grávidas suspeitas.

Atualmente, de acordo com o protocolo da PE em vigor no polo MAC, o diagnóstico laboratorial faz-se através da determinação da razão proteína/creatinina, normalmente em amostra única de urina.

Com base em informações presentes no programa *Clinidata II*, acessível no laboratório de PC da MAC, foi possível quantificar o número de análises realizadas desde o primeiro dia do ano até ao dia 19 de setembro, nos anos de 2022 e 2023. As análises prescritas e efetuadas foram: **a)** proteínas na urina (amostra única) / **b)** razão proteínas/creatinina na urina (amostra única) / **c)** razão sFlt-1/PLGF em soro (tabela 6.1).

Tabela 6.1 - Número de análises prescritas e efetuadas nos anos de 2022 e 2023, com data-limite de 19 de setembro em ambos os anos.

	2022	2023
Proteínas na urina	1438	1768
Razão proteínas/creatinina na urina (amostra única)	870	1140
Razão sFlt-1/PLGF em soro	626	946

Comparando os resultados obtidos, é possível retirar as seguintes conclusões:

- Embora a razão sFlt-1/PLGF ainda não esteja incluída no protocolo clínico da MAC para os casos de PE; os médicos cada vez mais reconhecem a sua utilidade prática. No ano de 2023, verifica-se um diferencial de 320 testagens, por comparação com o ano de 2022. Por analogia com a determinação da razão das proteínas/creatinina na urina, presume-se que a tendência para os próximos anos seja o acompanhamento das prescrições médicas para ambos os parâmetros.
- A discrepância de prescrições para a determinação de proteínas na urina em ambos os anos, muito provavelmente estará relacionado não só com a PE, mas também com outras condições que podem interferir com o processo evolutivo da gestação; como a diabetes ou doenças renais pré-existent.
- Até à data, no ano de 2023, têm sido feitos mais despistes e monitorizações para a PE por comparação com o mesmo tempo definido para o ano de 2022. O motivo por detrás deste fato não se encontra esclarecido, embora possa estar relacionado com a população asiática que atualmente se encontra a residir em Portugal e que, tal como já foi mencionado anteriormente, apresenta maior risco de desenvolvimento de PE (Ohkuchi et al., 2021).

De acordo com os estudos mencionados no capítulo anterior, as definições de valores de corte são fundamentais para excluir ou incluir o provável desenvolvimento da PE (Diagnostics, 2022b, 2022a; Hund et al., 2014; Ohkuchi et al., 2021). No polo MAC, a utilização da razão sFlt-1/PLGF reúne o consenso obtido a partir do estudo de caso - controlo multicêntrico e o estudo *PROGNOSIS*, ambos desenvolvidos no capítulo anterior do presente trabalho. Os valores de corte apresentados na tabela 6.2 são os valores de referência apresentados no programa *Clinidata II*.

Tabela 6.2 - Valores de corte da razão sFlt-1/PLGF a aplicar para a exclusão e o diagnóstico provável de PE, de acordo com a semana gestacional decorrente. As aplicações destes valores estão presentemente em vigor no polo MAC, tendo em conta a metodologia utilizada e as conclusões dos estudos clínicos efetuados e patrocinados pela Roche Diagnostics. A aplicação do valor de corte acima de 85 na razão sFlt-1/PLGF, entre a 20ª - 33ª semana de gestação+ 6 dias, e acima de 110 entre a 34ª semana de gestação até ao momento do parto, sugerem fortemente o desenvolvimento de PE.

Exclusão da Pré-Eclâmpsia	
Semana 20 - semana 23 + 6 dias	< 33
Semana ≥ 24 – até ao parto	≤ 38
Provável diagnóstico de Pré-Eclâmpsia	
Semana 20 – semana 33 + 6 dias	> 85
Semana ≥ 34 – até ao parto	> 110

Acredita-se que num futuro próximo, o teste da razão sFlt-1/PLGF seja integrado nas recomendações e protocolos clínicos em Portugal, nomeadamente no CHULC, fazendo oficialmente parte dos critérios laboratoriais a serem aplicados em casos suspeitos de PE.

7 CONCLUSÃO

A descoberta promissora da alteração de fatores angiogénicos na fisiopatologia da Pré-Eclâmpsia representa hoje a esperança de que, finalmente, num futuro próximo, será possível mitigar o flagelo dos ainda elevados índices de mortalidade e morbidade materna e fetal relacionados com a doença.

A determinação da razão sFlt-1/PLGF tem todo o potencial para se tornar no biomarcador de eleição para o diagnóstico e a previsão de PE em grávidas suspeitas. Além de permitir descartar com segurança o desenvolvimento da PE em uma semana após o teste e, com relativa segurança, até quatro semanas, também possibilita diagnósticos diferenciais mais precisos. Esses fatos contribuem para a redução do número de internamentos e de intervenções desnecessárias, com impacto relevante na redução económica na saúde e no conforto da própria grávida. Para além de auxiliar na decisão clínica, ainda fornece dados pertinentes relacionados com a eventual progressão da doença, que devem ser sempre enquadrados e avaliados em conjunto com outros critérios clínicos e laboratoriais para um diagnóstico mais preciso e confiável.

Embora a gestão clínica de grávidas suspeitas de PE seja uma área em constante mudança, muitos países se mantêm desatualizados e com lacunas na implementação de diretrizes e protocolos que especifiquem todos os eventuais cenários clínicos e quais as ferramentas de diagnóstico a implementar. A uniformização e aplicação dessas diretrizes seriam altamente produtivas na redução mundial da mortalidade e morbidade, embora possam colidir com a questão financeira associada aos países em desenvolvimento. Nestes locais, muitos fatores contribuem para os elevados índices de mortalidade e morbidade relacionados à patologia. Para contrariar essa tendência, a aplicação de algumas sugestões pode trazer benefícios significativos no combate à PE, destacando-se a divulgação da doença entre a população e a aplicação de medidas preventivas, protocolares e uniformizadas que permitam uma atuação precoce diante da mínima suspeita de PE. Medidas que priorizem a saúde materno e fetal são sempre uma mais-valia em comparação com a abordagem reativa. Em relação aos países desenvolvidos, também é essencial manter o foco na saúde materno e fetal, pelo que, seguir o exemplo dos países que revelam melhores índices no combate à PE é uma sugestão pertinente, viável e íntegra.

Após a análise de diversos artigos consultados durante a elaboração deste trabalho, fica implícito que uma parte da comunidade científica ainda mantém algumas reservas quanto à utilidade da razão sFlt-1/PLGF. Este ceticismo, em parte, deve-se às discrepâncias encontradas nas conclusões de diferentes estudos que sustentam os testes comerciais que quantificam estes biomarcadores angiogénicos, tanto em termos de valores preditivos, quanto na definição de valores de corte adequados a cada contexto clínico.

Independentemente da metodologia utilizada, é crucial padronizar a aplicação dos resultados obtidos, com o objetivo único comum de reduzir a mortalidade e a morbilidade materna e fetal associada à PE. Nesse contexto, torna-se imperativo investir em estudos e ensaios adicionais para determinar o verdadeiro impacto da razão sFlt-1/PLGF no combate a esta condição. O progresso científico muitas vezes inicia-se com questões e debates iniciais e a pesquisa contínua desempenha um papel vital no esclarecimento dessas incertezas. É através deste esforço contínuo que se obtém uma perspetiva mais esclarecedora quanto à utilização da razão sFlt-1/PLGF como uma potencial ferramenta valiosa no diagnóstico e tratamento da PE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfredo Leanõs-Miranda, Ana Graciela Nonasco-Leanõs, Reyes Ismael Carrillo-Juarez, Carlos José Molina-Pérez, Lilina Janet Sillas-Pardo., *et al.* (2020). Usefulness of the sFlt-1/PIGF (Soluble fms-Like Tyrosine Kinase-1/Placental Growth Factor) Ratio in Diagnosis or Misdiagnosis in Women With Clinical Diagnosis of Preeclampsia. *Hypertension*, 76, 892–900. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15552>Preeclampsia.
- Brown, M.A., Magee, L.A., Kenny, L.C., Karumanchi, S.A., McCarthy, F.P., Saito, S., *et al.* (2018). Hypertensive Disorders of Pregnancy: ISSHP Classification, Diagnosis, and Management Recommendations for International Practice. *Hypertension* 72, 24–43. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.10803>.
- Burton, G.J., Redman, C.W., Roberts, J.M., Moffett, A., (2019). Pre-eclampsia: pathophysiology and clinical implications. *BMJ* l2381. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/bmj.l2381>.
- Costa, M.L., Cavalli, R. de C., Korkes, H.A., *et al.* (2022). Diagnosis and Management of Preeclampsia: Suggested Guidance on the Use of Biomarkers. *Rev Bras Ginecol Obstet* 44, 878–883. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-0042-1744286>.
- Danielli, M., Thomas, R.C., Gillies, C.L., Hu, J., Khunti, K., Tan, B.K., (2022). Blood biomarkers to predict the onset of pre-eclampsia: A systematic review and meta-analysis. *Heliyon* 8, e11226. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11226>.
- Dathan-Stumpf, A., Rieger, A., Verlohren, S., Wolf, C., Stepan, H., (2022). sFlt-1/PIGF ratio for prediction of preeclampsia in clinical routine: A pragmatic real-world analysis of healthcare resource utilisation. *PLoS ONE* 17, e0263443. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263443>.
- De La Calle, M., Delgado, J.L., Verlohren, S., Escudero, A.I., Bartha, J.L., Campillos, J.M., Aguarón De La Cruz, A., Chantraine, F., García Hernández, J.Á., *et al.* (2021). Gestational Age-Specific Reference Ranges for the sFlt-1/PIGF Immunoassay Ratio in Twin Pregnancies. *Fetal Diagn Ther* 48, 288–296. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000514378>.
- F. A, J.E., Aurélio, J.E.F., 2015. Lisboa de Antigamente: Maternidade Doutor Alfredo da Costa. Lisboa de Antigamente. Disponível em: URL <https://lisboadeantigamente.blogspot.com/2015/11/maternidade-doutor-alfredo-da-costa.html> (accessed 9.27.23).
- Facca, T.A., Kirsztajn, G.M., Sass, N., (2012). Pré-eclâmpsia (indicador de doença renal crônica): da gênese aos riscos futuros. *J. Bras. Nefrol.* 34, 87–93. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-28002012000100015>
- Ferreira, T., 2010. Pré-Eclâmpsia - Obstetrícia. Passei Direto. Disponível em: URL <https://www.passeidireto.com/arquivo/82965251/pre-eclampsia> (accessed 7.11.23).
- Findlay, S., Girling, J., Haslam, S., Myers, J., Sharp, A., Sheehan, E., Simpson, N., Vatish, M., (2022). 1 Recommendations | PLGF-based testing to help diagnose suspected preterm pre-eclampsia | Guidance | NICE PLGF-based testing to help diagnose suspected preterm pre-eclampsia. Disponível em: URL <https://www.nice.org.uk/guidance/dg49/chapter/1-Recommendations> (accessed 4.25.23).
- Fishel Bartal, M., Sibai, B.M., (2022). Eclampsia in the 21st century. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 226, S1237–S1253. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.09.037>.

- Gathiram, P., Moodley, J., (2020). The Role of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System in Preeclampsia: a Review. *Curr Hypertens Rep* 22, 89. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11906-020-01098-2>.
- Herraiz, I., Simón, E., Gómez-Arriaga, P.I., Quezada, M.S., García-Burguillo, A., *et al.* (2018). Clinical implementation of the sFlt-1/PIGF ratio to identify preeclampsia and fetal growth restriction: A prospective cohort study. *Pregnancy Hypertension* 13, 279–285. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2018.06.017>.
- Hund, M., Allegranza, D., Schoedl, M., Dilba, P., Verhagen-Kamerbeek, W., Stepan, H., (2014). Multicenter prospective clinical study to evaluate the prediction of short-term outcome in pregnant women with suspected preeclampsia (PROGNOSIS): study protocol. *BMC Pregnancy Childbirth* 14, 324. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2393-14-324.8u>
- Ives, C.W., Sinkey, R., Rajapreyar, I., Tita, A.T.N., Oparil, S., (2020). Preeclampsia—Pathophysiology and Clinical Presentations. *Journal of the American College of Cardiology* 76, 1690–1702. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.08.014>.
- Jung, E., Romero, R., Yeo, L., Gomez-Lopez, N., Chaemsaitong, P., Jaovisidha, A., Gotsch, F., Erez, O., (2022). The etiology of preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 226, S844–S866. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.11.1356>.
- Khedagi, A.M., Bello, N.A., (2021). Hypertensive Disorders of Pregnancy. *Cardiology Clinics* 39, 77–90. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2020.09.005>.
- Kumar, N., Das, V., Agarwal, A., Agrawal, S., (2023). Correlation of sFlt/PIGF ratio with severity of preeclampsia in an Indian population. *AJOG Glob Rep* 3, 100177. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.xagr.2023.100177>.
- Lacerda, A., Antunes, I., Borges, M.A., 2022. Políticas e procedimentos: Protocolo Pré-Eclâmpsia - PRT.5014.
- Matsubara, K., Matsubara, Y., Uchikura, Y., Sugiyama, T., (2021). Pathophysiology of Preeclampsia: The Role of Exosomes. *IJMS* 22, 2572. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms22052572>.
- Medjedovic, E., Kurjak, A., Stanojević, M., Begic, E., (2023). Pre-eclampsia and maternal health through the prism of low-income countries. *Journal of Perinatal Medicine* 51, 261–268. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/jpm-2022-0437>.
- Narkhede, A.M., Karnad, D.R., (2021). Preeclampsia and Related Problems. *Indian J Crit Care Med* 25, S261–S266. Disponível em: <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10071-24032>.
- Nascimento, M.I. do, Cunha, A. de A., Netto, N.F.R., *et al.* (2023). COVID-19 and Preeclampsia: A Systematic Review of Pathophysiological Interactions. *Rev Bras Ginecol Obstet* 45, 347–355. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-0043-1770091>.
- NICE guideline, 2019. Hypertension in pregnancy: diagnosis and management.
- Ohkuchi, A., Saito, S., Yamamoto, T., Minakami, H., Masuyama, H., Kumasawa, K., *et al.* (2021). Short-term prediction of preeclampsia using the sFlt-1/PIGF ratio: a subanalysis of pregnant Japanese women from the PROGNOSIS Asia study. *Hypertens Res* 44, 813–821. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41440-021-00629-x>.
- Oliveira, L.G. de, Karumanchi, A., Sass, N., (2010). Pré-eclâmpsia: estresse oxidativo, inflamação e disfunção endotelial. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 32, 609–616. <https://doi.org/10.1590/S0100-72032010001200008>.
- Overton, E., Tobes, D., Lee, A., 2022. Preeclampsia diagnosis and management. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology* 36, 107–121. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bpa.2022.02.003>.

- Pankiewicz, K., Issat, T., (2023). Understanding the Role of Chemerin in the Pathophysiology of Pre-Eclampsia. *Antioxidants* (Basel) 12, 830. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox12040830>.
- Pollo-Flores, P., Ferraz, L., Lopes, P. de F., Marcolino, L., Amim-Júnior, J., Rezende-Filho, J., Braga, A., (2015). Alterações hepáticas da gravidez. *FEMINA* 43, 225–234. Disponível em: URL <http://files.bvs.br/upload/S/0100-7254/2015/v43n5/a5319.pdf>
- Qu, H., khalil, R., (2020). Vascular mechanisms and molecular targets in hypertensive pregnancy and preeclampsia. *Current hypertension Reports*. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00202.2020>.
- Rana, S., Burke, S.D., Karumanchi, S.A., (2022). Imbalances in circulating angiogenic factors in the pathophysiology of preeclampsia and related disorders. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 226, S1019–S1034. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.10.022>.
- Rana, S., Lemoine, E., Granger, J.P., Karumanchi, S.A., (2019). Preeclampsia: Pathophysiology, Challenges, and Perspectives. *Circ Res* 124, 1094–1112. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313276>.
- Rana, S., Powe, C.E., Salahuddin, S., Verlohren, S., Perschel, F.H., (2012). Angiogenic Factors and the Risk of Adverse Outcomes in Women with Suspected Preeclampsia. *Circulation* 125, 911–919. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.054361>.
- Roche Diagnostics, (2022a). Bula Elecsys® PLGF no Cobas e 601. Disponível em: https://elabdoc-prod.roche.com/eLD/web/pi/en/products/CPS_000498
- Roche Diagnostics, (2022b). Bula Elecsys® sFlt-1 Cobas e 601. Disponível em: https://elabdoc-prod.roche.com/eLD/web/pi/en/products/CPS_000512
- Roche Diagnostics, (2021). Manual do utilizador cobas® 6000 analyzer series. Disponível em: [be31231e-bac7-ec11-1591-005056a71a5d_cobas_6000_CUD_V8-](https://elabdoc-prod.roche.com/eLD/web/pi/en/products/CPS_000498)
- Rossi, E., Bernabeu, C., (2023). Novel vascular roles of human endoglin in pathophysiology. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 21, 2327–2338. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtha.2023.06.007>.
- Santos, K.A., Trevisan, M., (2021). A importância do controle de qualidade nos laboratórios de análises clínicas – uma revisão integrativa. *Pubsaúde* 6, 1–7. Disponível em: <https://doi.org/10.31533/pubsaude6.a168>.
- Serrano, B., Bonacina, E., Garcia-Ruiz, I., Mendoza, M., Garcia-Manau, P., Garcia-Aguilar, P., *et al.* (2023). Confirmation of preeclampsia-like syndrome induced by severe COVID-19: an observational study. *Am J Obstet Gynecol MFM* 5, 100760. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajogmf.2022.100760>.
- Stefan Verlohren, Ignacio Herraiz, Olav Lapaire, Dietmar Schlembach, Harald Zeisler, Pavel Calda, Joan Sabria, Filiz Markfeld-Erol, *et al.* (2014). New Gestational Phase-Specific Cutoff Values for the Use of the Soluble fms-Like Tyrosine Kinase-1/Placental Growth Factor Ratio as a Diagnostic Test for Preeclampsia. *Hypertension Preeclampsia*, 346–352. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01787>.
- Stepan, H., Galindo, A., Hund, M., Schlembach, D., Sillman, J., Surbek, D., Vatish, M., (2023). Clinical utility of sFlt -1 and PIGF in screening, prediction, diagnosis and monitoring of pre-eclampsia and fetal growth restriction. *Ultrasound in Obstet & Gyne* 61, 168–180. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/uog.26032>.
- Stepan, H., Hund, M., Andrzejek, T., (2020). Combining Biomarkers to Predict Pregnancy Complications and Redefine Preeclampsia: The Angiogenic-Placental Syndrome.

- Hypertension 75, 918–926. Disponível em:
<https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.13763>.
- Stepan, H., Hund, M., Gencay, M., Denk, B., Dinkel, C., Kaminski, W.E., Wieloch, P., Semus, B., Meloth, T., Dröge, L.-A., Verlohren, S., (2016). A comparison of the diagnostic utility of the sFlt-1/PIGF ratio versus PIGF alone for the detection of preeclampsia/HELLP syndrome. Hypertension in Pregnancy 35, 295–305. Disponível em:
<https://doi.org/10.3109/10641955.2016.1141214>.
- Tataru-Copos, A.-F., Popescu, M.I., Murvai, R., El Kharoubi, A., (2022). Efficiency of sFlt-1/PIGF Ratio in Preeclampsia Diagnosis. Medicina 58, 1196. Disponível em:
<https://doi.org/10.3390/medicina58091196>.
- Valentini, S.R., Sommer, W.A., Matioli, G., 2007. VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS. Arquivos do Mudi 11, 26–31.
- Vaz-de-Macedo, C., Clode, N., (2017). sFlt-1/PIGF ratio as a predictor of pre-eclampsia in the second and third trimesters of pregnancy: is clinical use supported by the evidence? Acta Obstet Gynecol Port 11, 76–79.
- Verlohren, S., Brennecke, S.P., Galindo, A., Karumanchi, S.A., Mirkovic, L.B., Schlembach, D., *et al.* (2022). Clinical interpretation and implementation of the sFlt-1/PIGF ratio in the prediction, diagnosis and management of preeclampsia. Pregnancy Hypertension 27, 42–50. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2021.12.003>.
- Von Dadelszen, P., Payne, B., Li, J., Ansermino, J.M., Broughton Pipkin, F., Côté, A.M., *et al.* (2011). Prediction of adverse maternal outcomes in pre-eclampsia: development and validation of the fullPIERS model. Lancet 9761, 1–39. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61351-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61351-7).
- W. Gregory Cooper, (2011). Cartilha Controle de Qualidade Portugues. Disponível em:
https://www.bio-rad.com.br/wp-content/uploads/2022/02/Cartilha_Contrôle_de_Qualidade_Portugues.pdf
- Walle, M., Gelaw, Y., Getu, F., Asrie, F., Getaneh, Z., (2022). Preeclampsia has an association with both platelet count and mean platelet volume: A systematic review and meta-analysis. PLoS One 17, e0274398. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0274398>.
- Westgard, J.O., (2003). Regras Múltiplas e “Regras de Westgard”: O que são? Regras Múltiplas e “Regras de Westgard”: O que são? Multirule and “Westgard Rules”: What are They? James O. Westgard. Disponível em: URL https://so.controllab.com/pdf/westgard_o_que_sao.pdf (accessed 8.9.23).
- Zeisler, H., Llurba, E., Chantraine, F., Vatish, M., Staff, A.C., Sennström, M., Olovsson, M., Brennecke, S.P., Stepan, H., *et al.* (2016). Predictive Value of the sFlt-1: PIGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. N Engl J Med 374, 13–22. Disponível em:
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1414838>.
- Zeisler, H., Llurba, E., Chantraine, F.J., Vatish, M., Staff, A.C., Sennström, M., Olovsson, M., *et al.* (2019). Soluble fms-like tyrosine kinase-1 to placental growth factor ratio: ruling out pre-eclampsia for up to 4 weeks and value of retesting. Ultrasound Obstet Gynecol 53, 367–375. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/uog.19178>.



NVA

NOVA SCHOOL OF
SCIENCE & TECHNOLOGY

