CAROLINA FREIRE

**Fator de crescimento placentário na identificação de fetos
pequenos constitucionais: resultados obstétricos e neonatais**

SÃO PAULO

2019

CAROLINA FREIRE

**Fator de crescimento placentário na identificação de fetos
pequenos constitucionais: resultados obstétricos e neonatais**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências.

Programa de Obstetrícia e Ginecologia

Orientadora: Profa. Dra. Rossana Pulcineli
Vieira Francisco

SÃO PAULO

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Freire, Carolina

Fator de crescimento placentário na identificação
de fetos pequenos constitucionais : resultados
obstétricos e neonatais / Carolina Freire. -- São
Paulo, 2019.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Obstetrícia e Ginecologia.

Orientadora: Rossana Pulcineli Vieira Francisco.

Descritores: 1.Gravidez 2.Retardo de crescimento
fetal 3.Feto pequeno para idade gestacional 4.Fator
de crescimento placentário 5.Insuficiência
placentária

USP/FM/DBD-147/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedicatória

Aos meus pais, pelo apoio incondicional e pelo exemplo de vida, valores e humildade.

Ao meu marido, Augusto, que sempre me incentivou e encorajou a buscar meus sonhos.

E ao meu filho, Lucas, que veio para deixar meus dias mais alegres e leves.

Agradecimientos

Ao Prof. Dr. Marcelo Zugaib, Professor Titular da disciplina de Obstetrícia do Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por permitir a realização deste trabalho em seu departamento.

À minha orientadora, Profa. Dra. Rossana Pulcineli Vieira Francisco, pela oportunidade de desenvolver este trabalho, pela confiança e apoio, e pelo exemplo de caráter, competência e determinação.

Aos Membros da minha banca de qualificação - Dr. Mário Henrique Burlacchini de Carvalho, Dra. Lisandra Stein Bernardes Ciampi de Andrade e Dr. Luciano Marcondes Machado Nardozza - pela contribuição e disponibilidade.

A todos os assistentes da Clínica Obstétrica do HCFMUSP que contribuíram, de forma direta ou indireta, para este estudo.

A todos os funcionários da Clínica Obstétrica, por sempre me tratarem com carinho e respeito, pelo apoio e ajuda necessária para realização desta pesquisa.

À Sra. Ana Maria da Silva Sousa Oliveira e Sra. Mara Sandra Hoshida, pela imensa colaboração e pelas tardes regadas de conversas e risadas.

Às amigas que ocorreram durante esta minha jornada, Renata Lopes Ribeiro, Renata Mendes, Milena Ribeiro, Alexandre Nozaki, Mariana Miyadahira, Danielle Domingues, João Carlos Fantini Schaefer, obrigada por estarem por perto e também ao incentivo dentro e fora do HCFMUSP.

À Sra. Lucinda Pereira, Srta. Agatha Rodrigues pela colaboração durante este trajeto.

E por último, mas não menos importante, às gestantes da Clínica Obstétrica da Faculdade de Medicina que literalmente deram seu sangue a este projeto pela ajuda e pela confiança depositadas.

Agradecimento Especial

Ao Dr. Silvio Martinelli, pelos anos de convivência e aprendizado.

Obrigada pela generosidade e tolerância. Você foi o diferencial em minha vida.

Minha profunda gratidão por tê-lo ao meu lado.

Epígrafe

“Não é o conhecimento, mas o ato de aprender,
Não a posse, mas a aquisição, que concedem o maior prazer”

(Carl Friedrich Gauss)

Normatização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento de sua publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L.Freddi, Maria F.Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviatura dos títulos e periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

Sumário

	Lista de abreviaturas e siglas	
	Lista de símbolos	
	Lista de tabelas	
	Lista de figuras	
	Resumo	
	Abstract	
1	INTRODUÇÃO.....	01
2	OBJETIVOS.....	05
2.1	Objetivo principal.....	06
2.2	Objetivo secundário.....	06
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	07
3.1	Fetos pequenos para a idade gestacional com Doppler umbilical normal.....	08
3.2	Desenvolvimento da placenta.....	10
3.3	Fatores angiogênicos e antiangiogênicos na gestação normal.....	11
3.4	Fatores angiogênicos e antiangiogênicos na pré-eclâmpsia e na restrição de crescimento fetal.....	13
3.5	PIGF e sFlit-1 na identificação da RCF.....	16
4.	CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	23
4.1	Tipo de estudo.....	24
4.2	População.....	24
4.3	Método.....	24
4.3.1	Seleção de Pacientes.....	24
4.3.1.1	Critérios de inclusão.....	24
4.3.1.2	Critérios de exclusão.....	25
4.3.1.3	Tamanho Amostral.....	26
4.3.2	Coleta de dados e acompanhamento das gestantes.....	26
4.3.2.1	Dopplervelocimetria das artérias umbilicais.....	26
4.3.2.2	Fator de crescimento placentário.....	27
4.3.3	Variáveis e conceitos.....	28
4.4	Análise estatística.....	30
4.5	Orçamento / Financiamento.....	30

5.	RESULTADOS.....	31
5.1	Característica da população.....	32
5.2	Descrição das variáveis maternas.....	32
5.2.1	Idade materna e etnia.....	32
5.2.2	Antecedentes obstétricos.....	33
5.2.3	Comorbidades e intercorrências obstétricas.....	35
5.3	PIGF.....	35
5.4	Descrição das variáveis do parto.....	37
5.4.1	Idade gestacional no parto.....	37
5.4.2	Via de parto.....	37
5.4.3	Indicação de parto.....	38
5.4.4	Distribuição do sexo do neonato.....	39
5.4.5	Peso de nascimento.....	39
5.5	Variáveis perinatais.....	40
6.	DISCUSSÃO.....	43
7.	CONCLUSÃO.....	49
8.	ANEXOS.....	51
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

ACM	Artéria Cerebral Média
ACOG	American College of Obstetricians and Gynecologists
AFP	Alfafetoproteína
AIG	Adequado para idade gestacional
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de projetos de Pesquisa
CPR	Razão Cerebroplacentária
CPR	Razão Cerebroplacentária
DHEG	Doença Hipertensiva Específica da Gestação
DHEG	Doença Hipertensiva Específica da Gestação
DMG	Diabetes mellitus gestacional
DMG	Diabetes mellitus gestacional
DP	Desvio padrão
DP	Desvio padrão
E	Especificidade
et al.	E outros
EUA	Estados Unidos da América
HAC	Hipertensão Arterial Crônica
HC-FMUSP	Hospital das clínicas da Faculdade de medicina da Universidade de São Paulo
IC	Intervalo de Confiança
IOT	Intubação orotraqueal
IP	Índice de Pulsatilidade
IR	Índice de resistência
Máx	Máximo
MG	Miligrama
Mín	Mínimo
MI	mililitro
N	Número
PAM	Pressão Arterial Média
PE	Pré-eclâmpsia
PIG	Pequeno para a idade gestacional
PIGF	Fator de crescimento placentário
PqC	Feto pequeno constitucional

RCF	Restrição de crescimento fetal
RCOG	Royal College of Obstetricians and Gynecologists
RN	Recém nascido
RPMO	Rotura prematura de membranas ovulares
S	Sensibilidade
sFlit-1	Tirosina quinase 1 semelhante a fms solúvel
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
UTI	Unidade de terapia intensiva
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo

$<$	Menor que
$\leq$	Menor ou igual a
$>$	Maior que
$\geq$	Maior ou igual a
$\pm$	Mais ou menos

Tabela 1	Distribuição das gestantes de acordo com os grupos conforme as indicações de interrupção da gestação – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018.....	38
Tabela 2	Indicações de parto operatório de acordo com os grupos PIG e AIG – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018	39
Tabela 3	Características maternas e obstétricas das gestações nos grupos PIG e AIG – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018.....	40
Tabela 4	Resultados perinatais dos recém-nascidos das gestantes do grupo PIG e AIG – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018	41
Tabela 5	Relação da RCF e da Idade Gestacional do Parto com a presença de icterícia neonatal nos grupo PIG e AIG – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018.....	42

Figura 1	Distribuição percentual da etnia na população de acordo com os grupos (PIG e AIG) – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018.....	33
Figura 2	Distribuição das gestantes conforme a paridade de acordo com os grupos (PIG e AIG) – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018.....	34
Figura 3	Distribuição das gestantes conforme o número de gestações de acordo com os grupos (PIG e AIG) – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018.....	34
Figura 4	Distribuição dos valores do PIGF entre os grupos PIG e AIG em relação a idade gestacional da coleta – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018.....	36
Figura 5	Relação dos valores do PIGF em comparação com os grupos PIG e AIG – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018.....	36

FREIRE, C. *Fator de crescimento placentário na identificação dos fetos pequenos constitucionais: resultados obstétricos e neonatais* (tese). São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2019.

INTRODUÇÃO: A diferenciação entre fetos com restrição de crescimento fetal (RCF) de início tardio (após 32 semanas) e fetos pequenos constitucionais (PqC) mostra-se essencial na prática clínica, pois os resultados perinatais são diferentes. A definição de peso fetal abaixo do percentil 10 para a idade gestacional chama atenção para esse grupo, mas outros métodos para essa identificação são necessários. Em ambos os casos, a dopplervelocimetria da artéria umbilical usualmente encontra-se normal. A falha na invasão trofoblástica pode aumentar a produção de citocinas pró-inflamatórias, fatores angiogênicos e antiangiogênicos pelo trofoblasto. O fator de crescimento placentário (PIGF), angiogênico, tem níveis menores detectados no sangue materno e expressão placentária também diminuída nessa situação.

OBJETIVOS: Os objetivos desse estudo foram comparar os resultados obstétricos e neonatais entre dois grupos de gestantes com valores de PIGF normais e divididas de acordo com o peso de nascimento e também as concentrações de PIGF entre eles.

MÉTODOS: Estudo clínico, prospectivo, transversal, do tipo caso-controle, realizado entre outubro de 2014 e julho de 2018, em que foram selecionadas 100 gestantes e divididas em 2 grupos: 50 gestantes do grupo PIG e 50 gestantes do grupo AIG. O grupo PIG compreendeu os casos de peso de nascimento abaixo do percentil 10 e dopplervelocimetria da artéria umbilical normal e o grupo AIG os casos de peso entre os percentis 10 e 90 para a idade gestacional, segundo a curva de Fenton *et al.* O PIGF foi dosado no sangue materno entre 35 e 37 semanas e definido como normal quando seus valores estavam acima do percentil 5 segundo a curva de Knudsen *et al.* (2012). A detecção das concentrações de PIGF circulante foi realizada por meio do teste Triage® PIGF (Rapid Quantitative Test for Placental Growth Factor) ALERE. O grupo PIG apresentou 8 casos de PIGF anormal e todos esses casos foram excluídos após a análise, resultando num total de 42 casos. Os seguintes resultados perinatais foram estudados: Apgar de 5º minuto, icterícia neonatal, necessidade de fototerapia, transfusão sanguínea, hemorragia sanguínea, hemorragia intracraniana, enterocolite necrotizante, sepse neonatal, hipoglicemia neonatal, Unidade de terapia Intensiva (UTI), Intubação orotraqueal (IOT) e óbito neonatal. Para a análise estatística foram utilizados os testes de Qui-Quadrado e teste não paramétrico de Mann Whitney e foi adotado o nível de significância de 5%.

RESULTADOS: A idade materna média no grupo PIG foi de $26,90 \pm 7,14$ anos e no grupo AIG de $29,08 \pm 5,74$ anos. No grupo PIG 32 (76,2%) pacientes e no grupo AIG 28 (56%) eram primigestas. A idade gestacional média do parto foi de $38,61 \pm 1,39$ semanas e $39,68 \pm 0,99$ semanas, no grupo PIG e no grupo AIG, respectivamente ($p < 0,01$). Não houve diferença significativa em relação aos grupos quanto a idade materna, gestações e partos anteriores e tipo de parto realizado. A média dos valores de PIGF foi de 323,98 e $\pm 477,44$ pg/mL para o grupo PIG e 404,06 e $\pm 393,80$ pg/mL para o grupo AIG ($p = 0,36$). Entre os

resultados perinatais avaliados, apenas a icterícia neonatal e a necessidade de fototerapia foram significativamente maiores no grupo PIG ($p<0,01$). Os fetos do grupo PIG apresentaram chance 3,67 vezes maior de icterícia em relação aos fetos do grupo AIG ($p=0,03$). As taxas de icterícia foram maiores quando a idade gestacional do parto era menor, de forma independente. Cada semana adicional para o parto diminuiu em 64% a chance de icterícia ($p<0,01$).

CONCLUSÃO: Os achados demonstram não haver diferença em relação a resultados perinatais, com exceção de maiores taxas de icterícia neonatal e necessidade de fototerapia para o grupo PIG. Além da alteração no crescimento, a menor idade gestacional do parto foi preditora independente da ocorrência deste evento. A concentração de PIGF entre os grupos PIG e AIG, após a exclusão dos casos alterados, foi também semelhante. O uso de marcadores angiogênicos, como o PIGF, pode dar mais segurança no acompanhamento destas gestações e ser um instrumento na diferenciação entre fetos restritos e pequenos constitucionais.

Palavras-chaves: 1. Gravidez; 2. Restrição de crescimento fetal; 3. Feto pequeno para idade gestacional; 4. Fator de crescimento placentário; 5. Insuficiência placentária.

Abstract

FREIRE, C. Placental growth factor in the identification of small constitutional fetuses: obstetric and neonatal outcomes (thesis). São Paulo: Faculty of Medicine, University of São Paulo, 2019.

INTRODUCTION: The differentiation between fetuses with early-onset fetal growth restriction (FGR) (after 32 weeks) and constitutionally small fetuses (CSF) is essential in clinical practice, because the perinatal outcomes are different. The definition of fetal weight below the 10th percentile for gestational age draws attention to this group, but other methods for such identification are necessary. In both cases, the umbilical artery Doppler velocimetry is usually normal. Failure of trophoblastic invasion may increase the production of proinflammatory cytokines, angiogenic and antiangiogenic factors by trophoblast. Placental growth factor (PIGF), angiogenic, has lower levels detected in maternal blood and the placental expression is also diminished in this situation.

OBJECTIVES: The objectives of this study were: comparing the obstetric and neonatal outcomes between two groups of pregnant women with normal PIGF values, and divided according to birth weight and according to the concentrations of PIGF between them.

METHODS: A clinical, prospective, cross-sectional, case-control study was conducted between October 2014 and July 2018, in which 100 pregnant women were selected and divided into 2 groups: 50 pregnant women in the SGA group and 50 pregnant women in the AGA group. The SGA group comprised the cases of birth weight below the 10th percentile and normal umbilical artery Doppler velocimetry and the AGA group comprised the cases with of birth weight between the 10th and 90th percentiles for gestational age, according to the curve of Fenton et al. PIGF was measured in maternal blood between 35 and 37 weeks and defined as normal when its values were above the 5th percentile according to the curve of Knudsen et al. (2012). The detection of circulating PIGF concentrations was performed using the Triage® PIGF (Rapid Quantitative Test for Placental Growth Factor) ALERE test. The SGA group presented 8 cases of abnormal PIGF and all these cases were excluded after the analysis, resulting in a total of 42 cases. The following perinatal outcomes were studied: Fifth minute Apgar, neonatal jaundice, need for phototherapy, blood transfusion, blood hemorrhage, intracranial hemorrhage, necrotizing enterocolitis, neonatal sepsis, neonatal hypoglycemia, Intensive Care Unit (ICU), orotracheal intubation (OTI) and neonatal death. For the statistical analysis, Chi-Square and non-parametric Mann Whitney tests were used and a significance level of 5% was used.

RESULTS: the mean maternal age in the SGA group was 26.90 ± 7.14 years. In the SGA group 32 (76.2%) patients were primigravidae and in the AGA group 28 (56%). The mean gestational age at delivery was 38.61 ± 1.39 weeks and 39.68 ± 0.99 weeks, in the SGA group and in the AGA group, respectively (p

<0.01). There were no significant differences between the groups regarding maternal age, previous pregnancies and births and type of delivery performed. The mean values of PIGF were 323.98 and $\pm$ 477.44 pg / mL for the SGA group and 404.06 and $\pm$ 393.80 pg / mL for the AGA group ($p = 0.36$). Among the perinatal outcomes evaluated, only neonatal jaundice and the need for phototherapy were significantly higher in the SGA group ($p < 0.01$). Fetuses of the SGA group showed 3.67 times greater chance of jaundice in relation to the fetuses of the AGA group ($p=0.03$). The rates of jaundice were higher when the gestational age of delivery was lower, independently. Each additional week for delivery reduced the chance of jaundice by 64% ($p<0,01$).

CONCLUSION: The findings demonstrate no difference in relation to perinatal outcomes, except for higher rates of neonatal jaundice and need for phototherapy in the SGA group. Besides the change in growth, the lower gestational age of the delivery was an independent predictor of the occurrence of this event. The concentration of PIGF between the SGA and AGA groups after the exclusion of the altered cases was also similar. The use of angiogenic markers, such as PIGF, may give more security in the follow-up of these pregnancies and may be an instrument in the differentiation between restricted fetuses and constitutionally small fetuses.

Keywords: 1.Pregnancy; 2.Fetal growth restriction; 3.Small fetus for gestational age; 4.Placental growth factor; 5.Placental insufficiency.

1. Introdução

A restrição do crescimento fetal (RCF) é uma das maiores complicações da gestação e refere-se a fetos que não conseguem atingir seu potencial genético de crescimento. A definição de RCF mais utilizada na literatura é a do crescimento fetal abaixo do percentil 10 para a idade gestacional. Em estudo de Gardosi *et al.* (2005), considerando apenas os casos de óbito fetal no Reino Unido, a RCF aparece como a principal causa associada, correspondendo a 43% dos casos¹. É uma condição mórbida que afeta 3 a 10% das gestações, com taxas de morbidade e mortalidade perinatais elevadas². Isto se deve a maior incidência de óbito intrauterino, morbidade fetal intraparto e partos operatórios³.

A etiologia da RCF pode ser dividida em causas maternas, fetais e placentárias. As causas maternas englobam qualquer doença crônica associada a doença vascular, como a insuficiência renal, diabetes mellitus, hipertensão arterial, doenças autoimunes, trombofilias, desnutrição, podendo também estar relacionadas com o uso de substâncias ilícitas, com consumo de tabaco e álcool. As causas fetais se relacionam com infecções fetais e anormalidades genéticas e estruturais. As causas placentárias associam-se com os infartos, hemangiomas, placenta circunvalada, entre outros. A insuficiência placentária é a principal causa de RCF e incide em cerca de 3% das gestações. Normalmente ocorre por diminuição do fluxo sanguíneo placentário e infartos na placenta⁴.

A RCF tem sido classificada como de início precoce (*Early onset*) ou tardio (*Late onset*), na qual apresenta diferentes fenótipos e diferenças em relação à época de início, valores da dopplervelocimetria, severidade e associação com pré-eclâmpsia. A RCF precoce apresenta maior comprometimento placentário, refletindo nos valores do Doppler das artérias umbilicais. Estão mais frequentemente associadas com pré-eclâmpsia e altas taxas de morbidade e mortalidade perinatal. Já a RCF de início tardio relaciona-se com menor severidade da doença placentária, menor associação com pré-eclâmpsia e valores normais da dopplervelocimetria umbilical. Em consequência há maior dificuldade na diferenciação dos fetos pequenos constitucionais daqueles que são restritos tardios.

Cerca de 50 a 70% dos fetos abaixo do percentil 10 são denominados pequenos constitucionais (PqC), não havendo maior risco perinatal e sua evolução tem sido comparada com a de fetos adequados para idade gestacional. Os maiores desafios na avaliação clínica de fetos suspeitos de RCF são o diagnóstico correto, métodos de vigilância adequados e a resolução da gestação na idade gestacional ideal⁵.

A diferenciação entre fetos com restrição de crescimento fetal daqueles pequenos constitucionais mostra-se essencial na prática clínica. A avaliação do Doppler da artéria umbilical tem sido usada como referência, propondo-se que sejam considerados pequenos para idade gestacional os fetos com resultado normal neste exame. Entretanto, alguns estudos demonstram piores resultados perinatais, como pH da artéria umbilical $< 7,15$, maiores taxas de cesariana por sofrimento fetal e de admissão em UTI neonatal, assim como neurodesenvolvimento subótimo, em gestantes portadoras de feto pequenos para a idade gestacional (PIG) e Doppler de artéria umbilical normal, especialmente acima de 32 semanas⁶⁻⁸.

Por essa razão buscam-se outros parâmetros para a identificação da RCF tardia, como anormalidades da dopplervelocimetria da artéria cerebral média (ACM), da relação cérebro-placentária e das artérias uterinas no terceiro trimestre, assim como peso abaixo do percentil 3, curvas individualizadas. Estes parâmetros, até esse momento, ainda não estão consolidados na prática clínica⁹.

Portanto, seria de grande valia que outros métodos, especialmente os não invasivos, como os biomarcadores placentários, pudessem ser usados na identificação do déficit de crescimento patológico. Nesse sentido, os marcadores angiogênicos como o VEGF e PlGF assumem papel importante. O VEGF é um potente agente angiogênico que promove a proliferação das células endoteliais e a permeabilidade vascular. O PlGF é membro da família do VEGF e também um potente agente angiogênico com afinidade ao receptor VEGFR-1(Flit-1)¹⁰.

Diversos estudos têm evidenciado o valor dos marcadores angiogênicos na predição da pré-eclâmpsia e da RCF¹¹⁻¹⁶. Benton *et al.* (2012), em estudo preliminar, demonstraram sensibilidade de 100% e especificidade de 86% na

diferenciação entre fetos com RCF de causa placentária e PqC, por meio da medida do PIGF sérico¹⁷.

Com isto, a identificação desses fetos pequenos, mas saudáveis, durante o pré-natal teria algumas vantagens: tranquilizar a mãe em relação ao andamento da gestação, diminuir o número de exames e com isso também reduzir os custos do sistema de saúde. Além disso, haveria foco naqueles fetos verdadeiramente restritos, reduzindo o acompanhamento desnecessário nas gestantes com os fetos PqC. A associação de métodos, como a dopplervelocimetria de artéria umbilical e marcadores angiogênicos, como o PIGF, poderia ser de grande auxílio na resposta a essa questão.

Em vista da ausência de estudos, até o presente momento, que comparem gestações com peso de nascimento inferior ao percentil 10, mas com Doppler umbilical e PIGF normais (provável pequeno constitucional), com fetos adequados para a idade gestacional, nos propusemos a avaliar estes dois grupos em relação aos resultados obstétricos e neonatais.

2. Objetivos

Os objetivos desse estudo, que avalia dois grupos de gestantes com valores de PIGF normais, divididas de acordo com o peso de nascimento: Grupo PIG – fetos com peso abaixo do percentil 10 para a idade gestacional e dopplervelocimetria umbilical normal e Grupo AIG – fetos com peso entre os percentis 10 e 90 para a idade gestacional, são:

2.1. Objetivo principal

Comparar os resultados obstétricos e neonatais entre o grupo PIG e o grupo AIG.

2.2. Objetivo secundário

Avaliar diferenças na concentração do PIGF entre o grupo PIG e o grupo AIG.

3. Revisão da Literatura

3.1. Fetos pequenos para a idade gestacional com Doppler umbilical normal

A diferenciação entre fetos verdadeiramente restritos, condição associada a resultados perinatais adversos, dos fetos pequenos constitucionais, vem adquirindo importância cada vez maior na prática clínica. Há alguns anos a dopplervelocimetria da artéria umbilical mostrava-se como único método capaz de diagnosticar a insuficiência placentária. Porém, estudos posteriores demonstraram que o Doppler umbilical pode não ser o único instrumento para detectar essa alteração, principalmente nas gestações dos fetos restritos de início tardio.

McCowan *et al.* (2000) avaliaram fetos pequenos para idade gestacional com relação à dopplervelocimetria da artéria umbilical normal e alterada e complicações neonatais. A casuística foi de 109 gestantes com Doppler da AU normal e 77 casos com Doppler da AU anormal. Os fetos com Doppler umbilical alterado foram identificados mais precocemente pela ultrassonografia (30,3 semanas vs. 32,9 semanas; $p<0,01$), apresentaram menor CA e o parto ocorreu em idades gestacionais menores em relação ao grupo com dopplervelocimetria normal ($p<0,01$). Também esses fetos apresentaram RCF mais grave e maior taxa de acidose. O grupo de fetos PIG e Doppler umbilical normal também foi comparado com outro grupo AIG (população geral) que frequentou o hospital. Nesse caso, houve maior taxa de admissão em UTI neonatal (35% vs. 12%; $p<0,01$) e 25% de hipoglicemia neonatal em comparação com o grupo AIG. Devido a estes achados, os autores concluíram que fetos pequenos com Doppler de AU normal podem apresentar maiores complicações neonatais⁸.

Em 2008, Figueras *et al.*, avaliaram os resultados perinatais e desenvolvimento neurológico de fetos PIG com dopplervelocimetria da artéria umbilical normal. A amostra consistiu de 129 gestantes com fetos PIG e 259 com fetos AIG. Os autores relataram risco aumentado de admissão na UTI (15,5% versus 3,9 %; $p<0,01$) e aumento da taxa de mortalidade neonatal (2,3% versus 0%; $p=0,04$) para o grupo de fetos PIG. Depois de 2 anos esse mesmo grupo

apresentou menor capacidade para resolução de problemas (42,8 versus 52,1; $p<0,01$) e pontuação menor em comportamento social (44,4 versus 54,6; $p<0,01$) em relação ao grupo AIG. Desta forma, constatando que pode ser desafiador o papel da dopplervelocimetria normal da AU para distinguir os casos de fetos pequenos constitucionais daqueles fetos restritos⁶.

Posteriormente, Figueras *et al.* (2008), examinaram a relação entre os fetos pequenos ao nascimento, definidos através das curvas customizadas, e o valor preditivo do Doppler da artéria umbilical para morbidade e mortalidade neonatal. A população estudada foi de 7645 gestações únicas. Destas, selecionaram 369 fetos FIG, dos quais 299 (81%) apresentavam a dopplervelocimetria da AU normal. Sendo que, este grupo, apresentou risco aumentado para cesariana de emergência por sofrimento fetal, pré-eclâmpsia, Apgar baixo, acidose neonatal, e morbidade neonatal (definida por um ou mais dos indicadores a seguir: internação por mais de 14 dias, convulsões neonatais, hemorragia intraventricular, leucomalácia periventricular, encefalopatia hipóxico-isquêmica e enterocolite necrosante). Constatou-se que a dopplervelocimetria da artéria umbilical normal isolada não pode ser utilizada como um indicador de baixo risco nestas gestações¹⁸.

Em outro estudo realizado, em 2012, Savchev *et al.*, teve como objetivo avaliar o risco de resultados perinatais adversos de acordo com o percentil do peso nos fetos FIG com dopplervelocimetria de artéria umbilical, cerebral e uterinas normais. Foram selecionados 132 casos de fetos FIG com dopplervelocimetria normal e 132 casos de fetos AIG. Não houve diferença significativa entre esses dois grupos na taxa de cesarianas (22,0 vs. 15,9%; $p=0,21$) e na frequência de acidose neonatal (3,3 vs. 1,5%; $p=0,30$). O grupo FIG, porém, teve maior número de cesarianas de urgência (15,9 vs. 5,3%; $p<0,01$) e maior tempo de hospitalização (1,39 vs. 0,87 dias; $p<0,05$). Quando o grupo de fetos FIG foi dividido de acordo com o percentil, aqueles com percentil abaixo de 3 apresentaram, em comparação ao grupo controle, taxas significativamente mais altas de parto cesárea (15,9 vs. 30%; $p=0,04$), de cesariana de urgência (5,3 vs. 25,0%; $p<0,01$) e maior tempo de hospitalização (0,87 vs. 2,0 dias; $p<0,01$). Os fetos com peso entre os percentis 3 e 10 não mostraram esta diferença em

relação ao grupo AIG, taxa de parto cesárea (15,9 vs. 15,3%; $p=0,89$) e taxa de cesariana de urgência (5,3 vs. 8,3%; $p=0,44$). Portanto, fetos com peso abaixo do percentil 3, mesmo com dopplervelocimetria normal, estão sujeitos a resultados neonatais adversos¹⁹.

Alguns autores também demonstraram que a maioria dos casos de PIG de início tardio apresenta sinais histológicos de insuficiência placentária, o que não reflete o resultado dopplervelocimetria da artéria umbilical²⁰⁻²². Em 2013, Parra-Saavedra demonstrou que placentas de fetos PIG com dopplervelocimetria de artéria umbilical normal apresentavam lesões histológicas refletindo insuficiência placentária. Os achados placentários que sinalizavam a subperfusão materna consistiam em alterações vasculares específicas (aterosclerose aguda e hipertrofia mural), depósito fibrinóide periviloso materno ou alterações vilosas e infartos vilositários. Para a identificação de fetos restritos tardios o autor sugere novos parâmetros, como outros exames de Doppler ou bioquímicos²⁰.

Diante desses achados, outros métodos, como os biomarcadores placentários, foram sugeridos para a identificação dos fetos PIG de maior risco para morbidade e mortalidade perinatal^{17, 23-27}.

3.2. Desenvolvimento da placenta

A placenta é órgão altamente vascularizado e apresenta rápido crescimento em curto espaço de tempo. Sua principal função consiste em suprir o aumento da demanda metabólica do feto. O seu desenvolvimento normal e a integridade funcional são fundamentais para o crescimento fetal normal. Além de transferência de nutrientes e aporte de oxigênio, também participa na eliminação de resíduos, imunorregulação, produção de hormônios e barreira de proteção.

O trofoblasto é um tecido metabolicamente ativo que produz hormônios, absorve nutrientes e elimina substâncias indesejáveis. Na gravidez

inicial, o trofoblasto extravilositário invade as artérias espiraladas e leva a perda da musculatura lisa e tecido elástico da parede desses vasos (entre 12-14 e 20-24 semanas). A conversão estrutural dessas artérias de pequeno calibre em artérias uteroplacentárias de grosso calibre, agora desprovidas de tecido muscular e elástico vasoativos, constitui a remodelação vascular e é de extrema importância para determinar a qualidade do implante placentário. O resultado fisiológico deste evento é uma vascularização de alto fluxo e baixa resistência que perfunde a placenta com nutrientes e sangue oxigenado²⁸. Na ausência desse evento, as artérias permanecem rígidas, ocasionando fluxo sanguíneo turbulento no interior dos espaços vilosos, com lesão da sua arquitetura e perfusão placentária inadequada. Portanto, para que ocorra desenvolvimento placentário normal é necessário a invasão da decídua materna pelo trofoblasto, seguida de crescimento vascular abundante e organizado²⁹.

3.3. Fatores angiogênicos e antiangiogênicos na gestação normal

Tanto a implantação quanto a placentação requerem a produção de numerosos fatores de crescimento angiogênicos, moléculas de adesão celular, citocinas e fatores de crescimento, metaloproteinases da matriz extracelular, hormônios e fatores de transcrição³⁰. Este desenvolvimento ocorre por meio de vasculogênese e angiogênese, sendo necessários fatores angiogênicos nesse processo, destacando-se principalmente o Fator de Crescimento Vascular Endotelial (VEGF), Fator de Crescimento Placentário (PlGF) e a porção solúvel da tirosina quinase (sFlit-1)^{10,29,31}. Estes biomarcadores presentes na circulação sanguínea materna e que refletem a função placentária podem trazer informações adicionais¹⁷ e podem ajudar na identificação de fetos pequenos constitucionais daqueles restritos.

O fator de crescimento placentário (PlGF) consiste em fator angiogênico circulante que está envolvido nesse processo de desenvolvimento placentário,

encontrando-se presente na circulação materna e na placenta durante a gestação^{10,32}. O PIGF é um fator de crescimento vascular encontrado em maior abundância nos vilos do citotrofoblasto e sinciciotrofoblasto. Faz parte da família do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), sendo este uma citocina multifatorial produzido por uma variedade de células incluindo a placenta. O VEGF é um potente agente angiogênico que promove a proliferação das células endoteliais e induz a permeabilidade vascular. Breier *et al.* (1992) demonstrou que o VEGF tem o papel de regulador multifuncional do crescimento e diferenciação de células endoteliais³³.

A família do VEGF desempenha papel de destaque na regulação da angiogênese e inclui os fatores VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C E VEGF-D, além do PIGF. O VEGF-A atua como mitógeno específico endotelial, por meio de ligação de alta afinidade com seus receptores, denominados vascular *endothelial growth factor receptor-1* (VEGFR-1) ou *fms-like tyrosine kinase* (Flt-1) e vascular *endothelial growth factor receptor-2* (VEGFR-2) ou *kinase domain receptor* (KDR). Os receptores de VEGF são majoritariamente expressos nas células endoteliais, mas também já foram identificados em outras células³⁴⁻³⁸. Ambos são importantes para o desenvolvimento vascular embrionário, mas apresentam intensidades de resposta diferentes ao estímulo por VEGF. O VEGFR-1 exibe resposta muito mais fraca ao estímulo com VEGF, exercendo algum efeito regulatório inibitório da angiogênese ao captá-lo. Além disso, existe uma forma alternativa solúvel de expressão do VEGFR- 1, chamada sFlt-1, que não possui a porção transmembrana do receptor e, portanto, não exerce atividade de sinalização intracelular, funcionando como antagonista da atividade angiogênica do VEGF^{39, 40}.

A atividade do PIGF e do VEGF é regulada pela porção solúvel da tirosina quinase (sFLIT-1), na qual se ligam com redução de seus níveis circulantes levando a disfunção endotelial e hipertensão²⁶. Em situações normais a expressão do PIGF ocorre exclusivamente nos tecidos placentários. Entretanto em situações patológicas sua expressão também pode ser induzida em outros tecidos.

Estudos prévios mostram que os níveis plasmáticos de PIGF são relativamente baixos entre a quinta e 12^a semana de gravidez. Ocorre então um aumento importante dos seus níveis entre a 15^a e 26^a semanas. O pico do PIGF ocorre entre 26 e 30 semanas e a partir da 31^a semana ocorre uma queda significativa de seus níveis até o termo^[41]. O sFLIT-1, ao contrário, permanece estável durante a gestação.

3.4. Fatores angiogênicos e antiangiogênicos na pré-eclâmpsia e na restrição de crescimento fetal

A disfunção placentária está envolvida em um espectro de condições obstétricas, incluindo a pré-eclâmpsia e a RCF. Nos últimos anos, várias evidências confirmam que a insuficiência placentária leva ao desequilíbrio na liberação pela placenta de fatores reguladores da angiogênese para a circulação materna⁴².

Na RCF parece haver uma diminuição tanto da circulação no sangue materno como da expressão placentária do PIGF. Acredita-se que a alteração vascular placentária e/ou da dinâmica dos vasos, que é frequentemente observada nessa doença, pode ser reflexo da expressão diminuída do PIGF. Estudos demonstraram que a hipóxia pode regular a expressão do PIGF nos tecidos placentários reduzindo sua expressão. A hipóxia também pode ser responsável pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias, fator de necrose tumoral α , interleucinas 1 β , e fatores anti-angiogênicos, como o sFlit-1²⁸. Marcadores angiogênicos placentários têm sido usados na predição e caracterização da pré-eclâmpsia e também na RCF de início precoce e tardio.

Em estudo realizado por Lash *et al.* (2002), os autores demonstraram que condições de baixa oxigenação, as células do citotrofoblasto do primeiro e terceiro trimestre secretam níveis mais elevados de VEGF e níveis diminuídos do PLGF^[43]. Soto *et al.* (2012) relacionaram a pré-eclâmpsia de início tardio com anormalidades na dosagem dos marcadores angiogênicos¹⁵. Resultados

semelhantes foram encontrados por Torry *et al.* (1998), os quais correlacionaram a diminuição dos níveis maternos de PIGF com alterações vasculares placentárias e com o surgimento da pré-eclâmpsia^[44]. Outros estudos demonstraram a relação dos níveis diminuídos de PIGF com aumento do risco para RCF^{11,14}.

Na tentativa de definir melhor a relação entre esses marcadores, Taylor *et al.*, em 2003, avaliaram as concentrações maternas de PIGF e VEGF em gestações normais (n=49), gestantes normotensas e fetos PIG (n=18), gestantes com pré-eclâmpsia e fetos AIG (n=20) e gestantes com pré-eclâmpsia e fetos PIG (n=11). A amostra consistiu, portanto, de 98 casos. As coletas de sangue materno foram realizadas nas semanas <14, 15 a 19, 21 a 25, 27 a 30 e 35 a 38. A concentração de PIGF foi significativamente menor nos três grupos estudados em comparação com as gestações normais. Os valores de VEGF foram indetectáveis (<30pg/mL) em todos os casos⁴⁵. Os autores relataram que estes achados suportam a hipótese de que baixa concentração de PIGF reflete sua produção reduzida pela placenta deficitária nos casos de fetos PIG e de pré-eclâmpsia e fetos PIG.

No ano de 2005, Shibata *et al.*, realizaram estudo para avaliar a relação entre as concentrações séricas e placentárias de sFlit-1 e PIGF de gestantes com fetos PIG. Foram selecionadas pacientes com fetos PIG (n=13), com pré-eclâmpsia (n=10) e para cada grupo estudado foi selecionado um grupo controle correspondente (grupo controle PIG, n= 16 e grupo controle pré-eclâmpsia, n= 8), baseado na idade gestacional da coleta da amostra. Os valores de sFlit-1 no grupo de gestantes com pré-eclâmpsia foram maiores em relação ao grupo controle (sérico, $p < 0.01$; placentário, $p = 0,03$), mas não houve diferença em relação ao grupo PIG. Os valores de PIGF foram menores em ambos os grupos, pré-eclâmpsia (sérico, $p < 0.01$; placentário, $p = 0.05$) e PIG (sérico, $p < 0.01$; placentário, $p = 0,03$) em comparação ao grupo controle. Não houve diferença estatística na concentração do PIGF entre os grupos pré-eclâmpsia e PIG ($p=0,27$). No grupo PIG, apesar de não se detectar aumento das concentrações de sFlit-1, os níveis de PIGF no sangue materno estavam diminuídos. Ao contrário do encontrado no grupo pré-eclâmpsia, o valor do sFlit-1 não foi maior no grupo de fetos PIG e gestantes normotensas. Os autores concluem que a diminuição do

PIGF não esteve sempre associada com o aumento do sFlit-1, não havendo necessariamente relação direta entre ambos¹⁴.

Outro estudo, de 2008, realizado por Romero *et al.* teve como objetivo determinar se as concentrações plasmáticas dos fatores angiogênicos e antiangiogênicos eram diferentes na evolução das gestações normais em comparação com as que cursam com PE e RCF. Demonstrou-se que as gestantes com fetos restritos apresentaram alterações nas concentrações plasmáticas de PIGF (níveis diminuídos), mas sem diferença nos valores do sFLIT-1. Os níveis de PIGF também se mostraram diminuídos nos casos de PE¹³.

Wallner *et al.*, em 2007, realizaram estudo com o objetivo de investigar os fatores de crescimento angiogênicos dos compartimentos maternos, fetais e placentários, e comparar com gestações normais e gestações com restrição de crescimento. Selecionaram 15 mulheres com restrição de crescimento fetal sem sinais de hipertensão e pré-eclâmpsia (PE), e RCF pós-natal confirmada. O grupo controle era formado por 16 mulheres com gestações únicas e sem alterações. Não houve diferenças significativas entre os grupos relacionadas a idade materna, tabagismo, proteinúria e pressão arterial. A idade gestacional do parto, assim como, o peso fetal de nascimento, foram menores no grupo com RCF em comparação ao grupo controle, com significância estatística. Os valores do índice de pulsatilidade (IP) da artéria umbilical e das artérias uterinas foram maiores no grupo RCF ($p < 0,01$). O PIGF foi significativamente menor no sangue materno do grupo RCF ($p < 0,01$), e também os valores de sFlit-1 foram menores ($p < 0,01$). Diferenças similares foram encontrados nas veias umbilicais, mas não nas artérias umbilicais. Com isto, os achados sugerem que gestantes com RCF apresentam desequilíbrio destes fatores angiogênicos. Os valores de sFlit-1 e PIGF no sangue da artéria umbilical não estavam alterados na RCF, sugerindo que o feto não teve papel nos achados dos marcadores angiogênicos⁴⁶.

No intuito de correlacionar o potencial entre os marcadores angiogênicos maternos e fetais com o Doppler das artérias umbilicais e uterinas, Schelembach *et al.* (2007) selecionaram 16 mulheres com pré-eclâmpsia e 15 gestantes com fetos restritos (suspeitos pela ultrassonografia e que apresentavam oligoâmnio

e/ou alteração do índice de pulsatilidade da artéria umbilical). Todas as gestantes tiveram parto cesárea para evitar a possível hipóxia durante o parto normal. O IP da artéria umbilical foi significativamente maior em mulheres com RCF quando comparado com o grupo da pré-eclâmpsia ($p < 0,05$), indicando a severidade das alterações feto-placentárias, enquanto o IP da artéria uterina não teve alteração significativa. No sangue materno foi encontrada correlação inversa dos níveis séricos do PIGF com o IP da artéria umbilical e uterina. Os níveis do PIGF nas veias umbilicais estavam abaixo do limite de detecção em todas as amostras dos fetos com RCF⁴⁷.

3.5 PIGF e sFlit-1 na identificação da RCF

O estudo conduzido por Crispi *et al.* (2008) sugere o envolvimento destes marcadores angiogênicos na patogênese da RCF, sendo que a medida de alguns desses fatores no sangue materno parece ser útil na identificação dos fetos com RCF e na diferenciação destes com os fetos PqC¹². Triunfo *et al.* (2014) selecionaram gestantes com fetos pequenos para idade gestacional RCF de início tardio e avaliaram os níveis séricos maternos de PIGF e a placenta. Houve relação entre insuficiência placentária e resultados perinatais adversos com níveis séricos maternos de PIGF¹⁶.

Asvold *et al.* (2011), compararam marcadores angiogênicos na circulação materna de gestantes com RCF grave (percentil abaixo de 2,5) e gestantes com crescimento fetal normal. Foram colhidas amostras de sangue no primeiro e segundo trimestre. Concluíram que os baixos níveis de PLGF nas duas amostras foram associados a maior risco de RCF, com aumento desse risco de aproximadamente 4 vezes (OR 3,8, 95% intervalo de confiança: 1,6, 8,8). Outras alterações que se associam a risco elevado de RCF incluem sFlt-1 materno baixo no início da gestação com aumento posterior do mesmo e da endoglobina solúvel¹¹.

Triunfo *et al.* (2014) realizaram estudo para analisar a associação entre os fatores angiogênicos e a insuficiência placentária na RCF de início tardio.

Selecionaram gestações únicas com parto após 34 semanas, e avaliaram o Doppler da artéria umbilical, cerebral média e uterinas. As concentrações do PIGF e do sFlit-1 foram analisadas no sangue materno e também as placentas quanto a sinais histológicos para insuficiência placentária. Foram estudadas 122 gestantes, e destas, 70 (57%) apresentaram sinais histológicos para insuficiência placentária. Valores elevados do índice de pulsatilidade da artéria uterina ($p=0.038$) e baixa concentração de PIGF ($p=0.002$) foram encontrados nos casos de insuficiência placentária confirmada. Também nesses casos, houve maior associação de pH no sangue da artéria umbilical $< 7,20$ no nascimento (30.8 vs 12.2%; $p=0.02$). Com isto, foi demonstrado que em fetos PIG sem alteração de Doppler da AU, a insuficiência placentária latente é frequentemente confirmada pela histologia e está associada a desequilíbrio dos fatores angiogênicos, com níveis séricos de PIGF maternos diminuídos¹⁶.

Em 2014, Lobmaier *et al.* Evidenciaram valores baixos de PIGF associados a resultados perinatais adversos na RCF de início tardio. Valores baixos de PIGF e aumentados de sFlit-1 também predisseram o desenvolvimento de pré-eclâmpsia²⁷.

Em 2015, Bakalis *et al.* realizaram estudo no qual gestações que resultaram em RNs PIG, na ausência de pré-eclâmpsia, entre 30-34 semanas de gestação, cursaram com valores de PIGF e alfafetoproteína (AFP) diminuídos e com valores de sFlit-1 e Beta-hCG aumentados em comparação com RNs AIG. O rastreamento combinado com fatores maternos, biometria fetal e níveis de PIGF entre 30 e 34 semanas (taxa de falso positivo de 10%) mostrou 85%, 93%, e 92% sensibilidade na predição de fetos com o percentil menor que 10, menor que 5 e menor que 3, respectivamente, e que tiveram o parto até 5 semanas após essa avaliação. As taxas de detecção diminuíram para 57%, 64% e 71%, respectivamente, quando tiveram o parto após 5 semanas dessa avaliação²³.

Em outro estudo prospectivo no mesmo ano, Bakalis *et al.* investigaram qual o potencial do rastreamento combinado utilizando características maternas e história clínica, peso estimado fetal, índice de pulsatilidade da artéria uterina, pressão arterial média (PAM) e níveis séricos de PLGF e sFlit-1, entre 30-34

semanas, para predição de neonatos PIG. Foram avaliadas 9472 mulheres com gestações únicas. Destas, em 469 casos, os RNs foram PIG e em 9003 casos, AIG, sem PE ou hipertensão gestacional. Os autores observaram que entre as gestações com RNs PIG e ausência de pré-eclâmpsia, houve aumento do PI da artéria uterina, PAM e do nível sérico do sFlit-1, e diminuição do peso estimado pela ultrassonografia e do nível sérico de PIGF. As alterações destes marcadores estiveram relacionadas com a severidade da doença e influenciaram no peso fetal. Os autores concluíram que o teste de rastreamento combinado (excluindo o sFlit-1), pode prever, com um falso positivo de 10%, 89%, 94% e 96% dos neonatos com parto entre 32 e 36 semanas e peso fetal abaixo do percentil 10, 5 e 3, respectivamente. E nos casos de parto com 37 semanas ou mais, a taxa de detecção foi de 57%, 65%, e 72%, respectivamente²⁴.

Em 2016, Triunfo *et al.*, realizaram estudo em gestantes entre 32 e 36 semanas e fetos com crescimento normal e avaliaram a performance do Doppler e de fatores angiogênicos na predição de RNs PIG. De 1000 gestações únicas com crescimento fetal normal pela ultrassonografia de terceiro trimestre, foram selecionados 80 casos, classificados como restritos ao nascimento e 80 casos de RNs de peso normal. Os fetos pequenos apresentaram aumento dos valores do índice de pulsatilidade da artéria uterina, diminuição dos níveis de PIGF e aumento da razão sFlit-1/PLGF, sendo todos obtidos na rotina do terceiro trimestre. A combinação da razão sFlit-1/PLGF e o Doppler da artéria uterina resultou numa taxa de detecção de 66,3% para os fetos restritos, com 20% de falsos positivos. O estudo concluiu que resultados anormais do Doppler das artérias uterinas e dos níveis circulantes de fatores angiogênicos podem ajudar na detecção dos fetos pequenos ao nascimento, mas que não foram não detectados durante o pré-natal⁴⁸.

Miranda *et al.*, em 2017, também estudaram no terceiro trimestre a performance do rastreamento baseado no peso fetal estimado pela ultrassonografia versus combinado (características maternas, PAM, ultrassonografia e marcadores bioquímicos) na predição de fetos pequenos para a idade gestacional e de restritos. O estudo foi prospectivo com 1590 mulheres de gestações únicas entre 32 e 36 semanas. Os fetos PIG foram definidos quando o

peso de nascimento foi menor que o percentil 10 e os restritos quando além do peso menor também apresentavam anormalidade na relação cerebroplacentária (CPR) ou alteração no Doppler das uterinas e/ou peso fetal abaixo do percentil 3. Dos 175 fetos PIG, em 93 casos estes também foram considerados restritos. E quando estes 175 casos foram comparados com controles, notou-se valores de PIGF significativamente menores. Ao utilizar apenas o marcador PIGF para o rastreamento, a taxa de detecção ficou em 42% e 56%, entre os fetos PIG e os restritos, respectivamente. Ao usar apenas o peso fetal estimado pela ultrassonografia para detectar fetos PIG, a taxa de detecção foi de 52%, e com o rastreamento combinado, de 61,5%, com 10% de resultados falso positivos. No caso de fetos restritos, a taxa de detecção apenas com o peso fetal estimado foi de 64%, e com o rastreamento combinado, de 77%, também com 10% de falso positivos. Os autores concluíram que o teste combinado foi o que apresentou melhor resultado⁴⁹.

Benton *et al.*, em 2011, realizaram estudo com o objetivo de investigar se a diminuição da concentração plasmática de PIGF seria capaz de diferenciar o PqC daquele com RCF. Foram excluídos os casos de síndromes genéticas, infecções e aneuploidias. Foram selecionados 16 casos: 9 com RCF e alteração placentária, 7 pequenos constitucionais com placenta normal e 79 controles de pacientes não fumantes. Os fetos restritos com placenta anormal compreendiam aqueles que o anatomopatológico da placenta mostrava necrose decidual, trombose, peso placentário baixo, depósito de fibrina, diminuição da vascularização fetal, trombose de vasos na face fetal, vasculopatia decidual, calcificações, infarto, trombose intervilar, vilosites e maturação avançada ou atrasada dos vilos. O PIGF foi considerado anormal quando seu valor se encontrava abaixo do percentil 5 para a idade gestacional (Knudsen *et al.*, 2012). Os nove casos de RCF com alteração placentária apresentaram concentrações de PIGF baixos (<12pg/mL). Também cursaram com valores anormais de PIGF 4 casos do grupo controle e 1 caso dos pequenos constitucionais. A mediana das concentrações do PLGF foi de 12 pg/ml, 84,4 pg/mL e 197 pg/mL nos fetos restritos, pequenos constitucionais e do grupo controle, respectivamente, com diferença estatística ($p < 0,01$). Para a diferenciação dos fetos restritos com

placenta anormal dos fetos pequenos constitucionais a sensibilidade foi de 100% e a especificidade foi de 86%. Segundo os autores, os níveis de PIGF na circulação materna tem potencial de identificar fetos com RCF e alteração placentária antes do nascimento^[17]. Nas gestações normais, os valores de PIGF aumentam gradualmente até 33 semanas e depois diminuem até o parto, conforme havia descrito Knudsen *et al.*^{.50}.

Em 2016, um novo estudo (Canadá, Nova Zelândia e Reino Unido) realizado por Benton, McCowan *et al.*, avaliou a capacidade do PIGF de identificar fetos restritos com placenta histologicamente anormal após o parto. Os critérios de elegibilidade foram: suspeita antenatal de RCF definida como circunferência abdominal abaixo do percentil 10 para idade gestacional, idade materna entre 18 e 45 anos e gestação única entre 20 e 41 6/7 semanas. Mulheres com hipertensão crônica ou gestacional e/ou pré-eclâmpsia durante a gestação, rotura prematura de membranas ovulares (RPMO), ou fetos com anormalidades genéticas e cromossômicas foram excluídos. A amostra de sangue foi colhida dentro de 14 dias após a identificação da RCF. Um total de 441 gestantes foi selecionado com suspeita de RCF (com ou sem a análise placentária). Em 213 pacientes a placenta foi coletada para análise, e destas, 94 apresentaram PIGF diminuído, sendo que 55 preencheram o critério para insuficiência placentária. Gestantes com valores baixos de PIGF apresentaram: aumento do índice de resistência (IR) das artérias umbilicais, idade gestacional do parto mais precoce, fetos com peso e percentil mais baixos e mais propensas a desenvolver hipertensão durante a gestação. Nesses casos valores baixos de PIGF mostraram sensibilidade de 87,5 % e especificidade de 62,8% para prever o óbito fetal. O PIGF diminuído apresentou 98,2% de sensibilidade e 75,1% de especificidade para identificar gestantes com RCF e alteração histológica da placenta. Este estudo sugere que o PIGF diminuído pode indicar a gravidade do comprometimento fetal na doença placentária e a probabilidade de morte perinatal. Os autores concluem que o PIGF diminuído consiste em ferramenta promissora para diferenciar a RCF do feto pequeno constitucional²⁵.

Anderson *et al.*, em 2019, investigaram a acurácia do PIGF reduzido em comparação com a dopplervelocimetria na identificação dos casos de RCF de

início tardio, e a associação desse achado com os resultados perinatais adversos. Foram incluídas 136 gestantes nas quais todas apresentaram fetos PIG depois de 32 semanas. Um PIGF baixo foi identificado em 44 (32,4%) gestações, e a RCF foi mais comum nesses casos (79.6% vs. 52.2%, $p < 0.01$). A RCF foi identificada com valor de PIGF $< p5$ com sensibilidade de 42 % (IC 95% 31-54%), especificidade de 83% (70-92%), valor preditivo positivo (VPP) de 80% (65-90%) e valor preditivo negativo (VPN) de 48% (37-59%). Ainda considerando o PIGF reduzido, 66% dos RN apresentaram peso com $p < 3$ pela curva customizada e 33% evoluíram com resultados perinatais adversos (cesariana por sofrimento fetal, e/ou evidência de hipóxia). Não houve diferença significativa em relação a taxa de cesariana por sofrimento fetal ($p = 0,07$), Apgar menor do que 7 no quinto minuto ($p = 0,21$), acidose no sangue de cordão umbilical ($p = 0,29$) e níveis baixos de PIGF. Os autores concluíram que o PIGF baixo identifica maior chance de RCF grave e de resultados perinatais adversos, principalmente a cesariana por sofrimento fetal. O PIGF anormal também esteve mais associado ao aparecimento de pré-eclâmpsia mais tardiamente. Segundo os autores, apesar da contribuição, o PIGF ainda não demonstrou poder substituir o Doppler no acompanhamento das gestantes com fetos PIG⁵¹.

Em 2018, Birdir *et al.* investigaram a dosagem dos marcadores sFlit-1, PIGF e PAPP-A, após 34 semanas, e sua relação com o aparecimento de pré-eclâmpsia e RCF de início tardio. Houve forte associação entre valores de sFlit-1 ($\text{Exp}(\beta) = 3.29$; 95% CI: 2.69–4.04; $p < 0,01$), PIGF ($\text{Exp}(\beta) = 3.29$; 95% CI: 2.69–4.04; $p < 0,01$) e sFlit-1/PIGF ($\text{Exp}(\beta) = 3.29$; 95% CI: 2.69–4.04; $p < 0,01$) anormais com pré-eclâmpsia. Assim como foi encontrado com a RCF de início tardio, sFlit-1 ($\text{Exp}(\beta) = 1.75$; 95% CI: 1.36–2.26; $p < 0,01$), PIGF ($\text{Exp}(\beta) =$; 95% CI 0.26–0.57, $p < 0,01$) e sFlit-1/PIGF ($\text{Exp}(\beta) =$; 95% CI 0.26–0.57; $p < 0,01$). O PAPP-A alterado na predição da pré-eclâmpsia demonstrou-se um pouco melhor que a sorte (sensibilidade 50% e especificidade 80,2%). O estudo conclui que os marcadores sFlit-1/PIGF no terceiro trimestre são úteis para predizer o risco de pré-eclâmpsia e RCF após as 34 semanas⁵².

Nesse mesmo ano, Thorsen *et al.* pesquisaram a associação entre as concentrações de sFlit-1 e PIGF no início e no final da gestação com o peso fetal

ou fetos PIG. Uma subanálise da ocorrência de pré-eclâmpsia e parto prematuro também foi incluída. Das 1937 gestações analisadas, 1433 mulheres colheram sangue antes de 20 semanas (gestação mais precoce), 1491 após 20 semanas (gestação mais tardia) e 987 nos dois períodos. Analisando o desfecho pré-eclâmpsia e parto prematuro na gestação mais tardia, os autores relataram valores de PIGF significativamente menores e sFlit-1 e sFlit-1/PIGF significativamente maiores. Esta mesma diferença ocorreu quando foram comparados os desfechos parto prematuro x termo. Na gestação mais precoce, nos modelos de regressão multivariada, não houve correlação significativa entre as concentrações dos marcadores angiogênicos. Na gestação mais tardia, nos modelos de regressão multivariada, o sFlit-1 e sFlit-1/PIGF estiveram negativamente associados ao z-score do peso de nascimento: β -coeficiente: -0,11 (95%CI: -0,21; -0,02) e -0,079 (-0,11; -0,05), respectivamente, enquanto que o PIGF esteve positivamente associado: β - 0,40 (0,33; 0,48). Quando ajustado a idade gestacional, IMC pré-gestacional, tabagismo e parto, apenas a correlação do z-score do peso de nascimento com o PIGF e o sFlit-1/PIGF permaneceu significativa ($p < 0,01$). Na presença de pré-eclâmpsia e parto prematuro essa correlação era ainda mais forte. Os autores concluem que ambos os marcadores angiogênicos apresentam potencial para rastreamento populacional de fetos PIG, especialmente a relação sFlit-1/PIGF nos casos de pré-eclâmpsia presente⁵³.

4. Casuística e Método

4.3. Tipo de estudo

Trata-se de um estudo clínico, prospectivo, transversal, do tipo caso-controle.

4.2 População

A pesquisa foi desenvolvida na Clínica Obstétrica e no Centro Neonatal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) entre outubro de 2014 e julho de 2018.

As gestantes foram acompanhadas no Setor de Baixo Peso Fetal do Ambulatório de Obstetrícia do HC-FMUSP e na Liga de Pré-Natal (Gestantes de Baixo Risco). Após a explicação sobre o projeto de pesquisa, as gestantes foram convidadas a participar do estudo, mediante a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE – Anexo 1), aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) da Diretoria Clínica do Hospital (Anexo 2). Gestantes com idade menor que 18 anos tiveram seu TCLE assinado por seu responsável legal.

4.3 Método

4.3.1 Seleção de Pacientes

4.3.1.1 Critérios de inclusão

- Gestação única com feto vivo e idade gestacional (IG) a partir de 35 semanas;

- IG confiável (data da última menstruação concordante com exame ultrassonográfico até 20 semanas ou em casos não concordantes utilizado o exame ultrassonográfico do primeiro trimestre);
- Mulheres não tabagistas.

A. Grupo PIG

- Doppler de artéria umbilical com IP < percentil 95 para a IG, de acordo com a curva de referência (Arduini e Rizzo, 1990)^[54];
- Peso fetal estimado < percentil 10 para IG segundo a curva de Hadlock *et al.* (1991)⁵⁵.

B. Grupo AIG

- Gestantes saudáveis;
- Peso fetal estimado entre p10 e p90 para IG segundo a curva de Hadlock *et al.* (1991)⁵⁵.

4.3.1.2 Critérios de exclusão

- Peso do RN maior que o percentil 10 para a idade gestacional segundo a curva de Fenton *et al.* para o grupo PIG⁵⁶;
- Peso do RN menor que o percentil 10 ou maior que o percentil 90 para a idade gestacional segundo a curva de Fenton *et al.* para o grupo AIG⁵⁶;
- Valores de referência de PIGF anormais (< percentil 5 para a idade gestacional), segundo curva de referência de Knudsen *et al.* (2012).⁵⁰;
- Anormalidades anatômicas e/ou cromossômicas e/ou genéticas no RN;
- Doppler de artéria umbilical anormal durante o seguimento;
- Ausência de dados do parto.

4.3.1.3 Tamanho Amostral

Por se tratar de estudo com número limitado de testes para PIGF (ALERE Triage® Meter) o tamanho amostral foi por conveniência. Dessa forma, foram analisados 50 casos em cada um dos dois grupos, totalizando 100 casos. Foram acompanhadas de forma prospectiva 50 gestantes do grupo PIG e 50 gestantes do grupo AIG.

4.3.2 Coleta de dados e acompanhamento das gestantes

A coleta de dados dos Grupos PIG e AIG foi feita por meio de formulário padronizado (Anexo 3), preenchido com base nos dados em prontuários de gestantes e dos respectivos recém-nascidos.

Os dados referentes ao estudo foram posteriormente transferidos para um banco de dados (MS Excel).

As pacientes com fetos PIG foram seguidas no Ambulatório de Baixo Peso Fetal da Clínica Obstétrica do HC-FMUSP até o nascimento e submetidas a exames de vitalidade fetal (Perfil biofísico fetal e Dopplervelocimetria) e ultrassonografia obstétrica seriada, de acordo com o protocolo vigente no Serviço (Zugaib, & Bittar, 2015)².

4.3.2.1. Dopplervelocimetria das artérias umbilicais

Todos os exames para avaliar a vitalidade fetal foram executados no Setor de Vitalidade Fetal da Clínica Obstétrica HC-FMUSP, dispondo-se dos seguintes equipamentos de ultrassonografia: Voluson Expert da GE, Toshiba Aplio, Envisor da Philips, com Doppler colorido. Utilizou-se transdutor convexo de 3,5 MHz e o filtro da tela foi fixado no valor de 50 Hz. O sonograma foi

considerado adequado quando registrou pelo menos 3 ondas de velocidade de fluxo consecutivas semelhantes, com índices similares em 3 diferentes medidas, sendo computado seu valor médio.

O estudo da artéria umbilical foi realizado no segmento do cordão umbilical distando aproximadamente 3 cm da borda placentária. Após a obtenção do sonograma, foram realizadas as medidas do IP nestas artérias. O valor do IP foi confrontado com a curva publicada da artéria umbilical em gestantes normais e considerado normal quando seu valor se situou abaixo do percentil 95 da idade gestacional correspondente, segundo curva de normalidade de Arduini e Rizzo (1990)⁵⁴.

4.3.2.2 Fator de crescimento placentário

Para a dosagem sérica do PIGF foram realizadas punções venosas entre 35 e 37 semanas gestacionais em ambos os grupos. O soro obtido foi estocado em temperaturas inferiores a -20°C para posterior análise. Todas as reações foram feitas em duplicata no LIM-57 da Disciplina de Obstetrícia. Para esta mensuração, o teste utilizado foi o Triage® PIGF (*Rapid Quantitative Test for Placental Growth Factor*) ALERE (San Diego, Califórnia, EUA). Este imunoensaio utiliza anticorpos monoclonais fluorescentes contra o PIGF, para determinar a concentração do mesmo em amostras de soro.

Após o gotejamento da amostra do sangue da paciente no cartucho do teste de PIGF, este cartucho foi inserido no medidor (ALERE Triage® Meter). A análise é baseada na quantidade de fluorescência que o medidor detecta na zona específica. A concentração de PIGF da amostra é diretamente proporcional à fluorescência detectada. O resultado é exibido na tela do medidor em aproximadamente 15 minutos. Todos os resultados ficam armazenados na memória do aparelho, podendo ser posteriormente exibidos ou impressos.

A variação de medida do teste é de 12-3000 pg/ml. Medidas inferiores a 12 pg/ml são mostradas no visor do aparelho como resultado qualitativo (< 12 pg/ml). Um teste anormal é definido quando a concentração do PIGF for inferior

ao percentil 5 para a IG ($< 14,6$ pg/ml), segundo curva de referência de Knudsen *et al.* (2012).

4.3.3 Variáveis e conceitos

As gestantes do estudo foram caracterizadas de acordo com as seguintes informações:

a. Dados demográficos

- Idade materna (anos);
- Cor (branca e não branca);
- Número de gestações e paridade.

b. Fator do crescimento placentário: em pg/ml, sendo classificado em normal ou anormal

c. Desfechos obstétricos

- Indicação de interrupção da gestação e do parto operatório:
 - Sofrimento fetal anteparto: alteração dos exames de vitalidade fetal segundo padronização descrita nos Protocolos Assistenciais da Clínica Obstétrica – Zugaib & Bittar, 2015;
 - Índice de Líquido amniótico inferior a 5;
 - Distocia funcional: anormalidade do fator contrátil no trabalho de parto, o que influencia indiretamente a progressão da dilatação cervical;
 - Falha de indução: ausência de atividade uterina após duas horas de infusão de dose máxima de ocitocina ou após duas horas de amniotomia;
- Outras:
 - Idade gestacional em semanas por ocasião do parto (semanas);
 - Tipo de parto: vaginal ou cesárea;
 - Peso do RN: em gramas.

d. Resultados neonatais:

- Índice de Apgar no 5º minuto < 7 ;

- pH de artéria do cordão umbilical;
- Necessidade e tempo de internação em UTI neonatal (dias);
- Necessidade de intubação orotraqueal (IOT) dos RNs;
- Hemorragia pulmonar: sangramento vivo ou saída de líquido róseo por cânula traqueal associado ou não à deterioração do quadro clínico, podendo ocorrer palidez, choque, cianose, bradicardia e apnéia;
- Enterocolite necrosante: foram considerados os estágios de Bell (1978) modificados por Walsh, Kliegman (1986) caracterizados como: estágio I – suspeita de enterocolite com quadro de distensão abdominal moderada, vômitos, sangramento intestinal e exame radiológico apresentando dilatação intestinal; estágio IIA – doença leve com dilatação e pneumatose intestinal; estágio IIB – doença moderada com sinais sistêmicos de acidose metabólica e trombocitopenia com presença de gás em veia porta ou ascite; estágio IIIA – doença grave com peritonite generalizada e sinais de choque séptico e, estágio IIIB – presença de perfuração intestinal e pneumoperitônio;
- Icterícia neonatal;
- Necessidade de fototerapia (dias);
- Hipoglicemia neonatal: ocorrência de glicemia plasmática inferior a 40mg/dl, nas primeiras 24 horas de vida;
- Seps neonatal: diagnóstico diante de hemocultura positiva ou evidência clínica de foco infeccioso com pelo menos dois dos seguintes achados: hipertermia, hipotermia, taquicardia, taquipnéia, anormalidades na contagem de leucócitos e da coagulação;
- Tempo total de internação dos RNs no berçário (dias);
- Ocorrência e causa de óbito neonatal.

4.4 Análise estatística

Para a análise estatística foram utilizados o software Microsoft Excel versão 2016 para a construção do banco de dados e o programa estatístico SPSS v. 20 para a análise do mesmo.

As variáveis quantitativas foram apresentadas em forma de medidas de tendência central e de dispersão (média, mediana, desvio-padrão).

Para as variáveis qualitativas, foi verificado a existência de associação e foram observadas as frequências, absoluta e relativa, em cada categoria e avaliadas pelo teste Qui-Quadrado de Pearson. Para valores de p menores que 0,05, foi considerada associação estatisticamente significativa entre as variáveis.

Para a comparação entre os grupos de variáveis quantitativas foi realizado o teste não paramétrico de Mann Whitney.

Para verificar possíveis variáveis preditoras e confundidoras da ocorrência de resultados neonatais adversos (variáveis dicotômicas) o modelo de regressão logística foi utilizado.

4.5 Orçamento/Financiamento

O projeto utilizou a infraestrutura já existente na Clínica Obstétrica do HCFMUSP.

O medidor (ALERE Triage® Meter) e os testes Triage® PIGF (*Rapid Quantitative Test for Placental Growth Factor*) foram fornecidos sem custo pela empresa ALERE (filial no Brasil).

5. Resultados

5.1 Característica da população

No período de 2014 a 2018, foram selecionadas 150 pacientes, com gestações únicas. Foram excluídos 50 casos e os motivos são expostos a seguir. Em 26 pacientes do Grupo PIG o peso do RN foi maior que o percentil 10 para idade gestacional. Em 9 pacientes do Grupo AIG o peso do RN esteve abaixo do percentil 10 ou acima do percentil 90 para idade gestacional. Em 11 gestantes não foi possível obter os dados do parto, em 3 houve alteração de vitalidade e em 1 gestante o RN apresentou alteração genética. Posteriormente estarão descritos os casos excluídos após a dosagem do PIGF.

Portanto, a casuística inicial, antes da exclusão dos casos de PIG com PIGF anormal, foi de 100 pacientes, sendo 50 do grupo PIG e 50 do grupo AIG.

5.2. Avaliação inicial dos 100 casos: descrição das variáveis maternas

5.2.1. Idade materna e etnia

A idade materna do grupo PIG variou de 13 a 43 anos, com média e desvio-padrão de 26,90 e $\pm 7,14$ anos, respectivamente. E no grupo AIG variou de 17 a 41 anos, com média e desvio-padrão de 29,08 e $\pm 5,74$ anos. Não houve diferença significativa entre os dois grupos ($p=0,09$).

Referente a distribuição das gestantes conforme a etnia, houve predomínio da etnia branca (69%) em relação a parda (23%) e preta (7%). Não houve diferença significativa entre os dois grupos referentes a etnia ($p=0,18$). A distribuição percentual da etnia nos grupos PIG e AIG está representada na Figura 1.

Figura 1- Distribuição percentual da etnia na população de acordo com os grupos (PIG e AIG) – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018

5.2.2. Antecedentes obstétricos

Quanto a paridade, tivemos 40 gestantes multíparas e 60 gestantes nulíparas. Quanto à gestação, 50 foram primigestas. Não houve diferença significativa entre os dois grupos com relação a números de partos ($p=0,41$) e de gestações ($p=0,69$) (Figuras 2 e 3).

Figura 2- Distribuição das gestantes conforme a paridade de acordo com os grupos (PIG e AIG) – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018

Figura 3- Distribuição das gestantes conforme o número de gestações de acordo com os grupos (PIG e AIG) – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018

5.2.3. Comorbidades e intercorrências obstétricas

No grupo PIG 37 gestantes apresentaram alguma doença clínica ou intercorrência obstétrica. Destas pacientes, sete apresentaram diabetes *mellitus* gestacional (DMG), 12 tiveram hipotireoidismo, quatro gestantes evoluíram com doença hipertensiva específica da gestação (DHEG), quatro gestantes apresentaram hipertensão arterial crônica (HAC), uma gestante com epilepsia, três gestantes com asma, cinco gestantes com cardiopatia materna e uma gestante com artrite reumatoide.

5.3. PIGF

A idade gestacional da coleta no grupo PIG teve média e desvio padrão de 35,64 e $\pm 0,62$ semanas e no grupo AIG foi 35,92 e $\pm 0,52$ semanas ($p=0,02$). Os valores do PIGF no grupo PIG variaram de <12 a 2665 pg/mL, com média e desvio-padrão de 323,98 e $\pm 477,44$ pg/mL e no grupo AIG de 34,4 a 2195 pg/mL, com média e desvio-padrão de 404,06 e $\pm 393,80$ pg/mL ($p=0,36$). A distribuição dos valores de PIGF entre 35 e 37 semanas e entre os grupos pode ser observada nas figuras 4 e 5.

Figura 4- Distribuição dos valores de PIGF entre os grupos PIG e AIG em relação a idade gestacional da coleta – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018.

Figura 5- Relação dos valores do PIGF em comparação com os grupos PIG e AIG – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018.

Em 8 gestantes o PIGF foi anormal ($<14,6$ pg/mL), de acordo com a idade gestacional. Todas essas mulheres foram do grupo PIG e em 7 delas, o percentil de peso de nascimento esteve abaixo de 3 para a idade gestacional. Essas gestantes foram excluídas após essa análise, resultando num total de 42 casos para esse grupo.

5.4. Análise dos casos com PIGF normal (42 PIG x 50 AIG): descrição das variáveis do parto

5.4.1. Idade gestacional no parto

A idade gestacional do parto do grupo RCF variou de 35,42 a 41,14 semanas, com média e desvio-padrão de 38,61 e $\pm 1,39$ semanas. E no grupo AIG variou de 36,84 a 41,43 semanas, com média e desvio-padrão de 39,68 e $\pm 0,99$ semanas. Comparando-se os dois grupos, houve diferença estatisticamente significativa em relação a idade gestacional do parto ($p < 0,01$).

Em relação ao parto com menos de 37 semanas, no grupo PIG houve 2 casos e no grupo AIG apenas 1 caso, sem diferença estatística ($p = 0,59$).

5.4.2. Via de parto

A via de parto predominante nos dois grupos foi a cesárea, sendo 52,40% e 44,00% no grupo PIG e AIG, respectivamente. Não se observou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p=0,47$).

5.4.3. Indicação de parto

A tabela 1 expõe as indicações de interrupção da gestação entre os grupos. O trabalho de parto espontâneo ocorreu em 27 casos, seguido de PIG associada a comorbidades (12), idade gestacional ≥ 40 semanas (9), sofrimento fetal anteparto (3) e índice de líquido amniótico < 5 cm (2). Outras indicações ocorreram em 39 casos.

Tabela 1- Distribuição das gestantes de acordo com os grupos conforme as indicações de interrupção da gestação – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018.

	Grupo PIG n (%)	Grupo AIG n (%)
Trabalho de parto espontâneo	10/42 (23,81%)	17/50 (34,00%)
PIG e comorbidades	12/42 (28,57%)	0
IG ≥ 40 semanas	5/42 (11,90%)	4/50 (8,00%)
Sofrimento fetal anteparto	0	3/50 (6,00%)
ILA < 5 cm	1/42 (2,38%)	1/50 (2,00%)
Outras	14/42 (33,33%)	25/50 (50,00%)

Nota: PIG: Pequeno para idade gestacional, IG: Idade gestacional, ILA: Índice de Líquido Amniótico, n: número de casos.

*p<0,001

A tabela 2 apresenta a distribuição das indicações do parto operatório em relação aos grupos estudados. A maior indicação desses casos foi a cirurgia uterina prévia, que ocorreu em 9 dos 44 casos no total (20,45%).

Tabela 2- Indicações de parto operatório de acordo com os grupos PIG e AIG – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018.

	Grupo PIG n/total (%)	Grupo AIG n/total (%)	TOTAL n/total (%)
Cirurgia uterina prévia	3/22 (13,63%)	6/22 (27,27%)	9/44 (20,45%)
Sofrimento fetal intraparto	4/22 (18,18%)	3/22 (13,64%)	7/44 (15,91%)
Desproporção cefalopélvica	1/22 (4,54%)	4/22 (18,18%)	5/44 (11,36%)
Apresentação pélvica	4/22 (18,18%)	1/22 (4,54%)	5/44 (11,36%)
Falha de indução	1/22 (4,54%)	0	1/44 (2,27%)
Outros	8/22 (36,36%)	8/22 (36,36%)	16/44 (36,36%)

Nota: n: número de casos.

*p=0,25

5.4.4. Distribuição do sexo do neonato

Com relação ao sexo do neonato, no grupo PIG foram 27 (64,30%) de sexo feminino e 15 (35,70%) do sexo masculino, enquanto no grupo AIG foram 26 (52,00%) do sexo feminino e 24 (48,00%) do sexo masculino (p= 0,23).

5.4.5. Peso de nascimento

No grupo PIG, o peso ao nascimento variou de 1560 g a 2940 g, sendo a média e desvio padrão de 2405,48 e $\pm 329,61$ g. No grupo AIG o peso variou de 2595 g a 4320g, sendo a média e desvio-padrão de 3347,58 e $\pm 317,69$ g. No grupo PIG, 17 (40,48%) RNs apresentaram o percentil de nascimento abaixo do percentil 3.

A tabela 3 apresenta os resultados maternos e obstétricos de acordo com os grupos estudados.

Tabela 3- Características maternas e obstétricas das gestações nos grupos PIG e AIG – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018

	Grupo PIG	Grupo AIG	p
n	42	50	
Idade gestacional do parto, semanas			
média ±DP	38,61 ± 1,39	39,68 ± 0,99	<0,01
(mín – máx)	(35,42 - 41,14)	(36,84 – 41,43)	
< 37 semanas, n(%)	2(4,80%)	1(2,0%)	0,45
Via de parto, n (%)			
Normal	16 (38,10%)	19 (38,00%)	0,47
Fórcipe	4 (9,50%)	9 (18,00%)	
Cesárea	22 (52,40%)	22 (44,00%)	
Sexo do neonato, n (%)			
Masculino	15(35,70%)	24 (48,00%)	0,23
Feminino	27(64,30%)	26 (52,00%)	
Peso do RN, gramas			
média±DP	2405,48 ± 329,61	3347,58 ± 317,69	<0,01
(mín – máx)	(1560 – 2940)	(2595 – 4320)	
Percentil de peso < 3	17(40,48%)	-	-

Nota: DP: desvio-padrão, máx: máximo, mín: mínimo, n: número de casos, p: nível descritivo de probabilidade, RN: Recém-Nascido.

5.5. Variáveis perinatais

Quando analisadas as variáveis perinatais, os parâmetros que apresentaram diferenças estatisticamente significativas foram a icterícia neonatal e a necessidade de fototerapia. No grupo PIG, 21(50,00%) e 12(28,60%) RNs apresentaram icterícia e necessidade de fototerapia, respectivamente, e no grupo AIG foram 6 (12,00%) e 4 (8,00%) RNs, respectivamente. Não houve diferença

estatisticamente significativa entre os grupos para todas as outras variáveis: necessidade de transfusão sanguínea, hemorragia pulmonar, hemorragia intracraniana, enterocolite necrosante, sepse neonatal, hipoglicemia neonatal, necessidade de UTI neonatal ou IOT, óbito fetal e tempo total de internação dos RN. Em relação ao pH de cordão umbilical abaixo de 7,20, o grupo PIG houve 14/25 casos (56,00%) e o grupo AIG 12/33 casos (36,40%), também sem diferença significativa entre eles ($p=0,13$), como pode ser verificado na tabela 4.

Tabela 4- Resultados perinatais entre gestantes do grupo PIG e AIG – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018

	Grupo PIG n/total (%) ou média	Grupo AIG n/total (%) ou média	p
pH de cordão umbilical < 7,20	14/25 (56,00%)	12/33 (36,40%)	0,14
Apgar de 5º min < 7	0	0	-
Icterícia neonatal	21/42 (50,00%)	6/50 (12,00%)	<0,01
Necessidade de fototerapia	12/42 (28,60%)	4/50 (8,00%)	0,01
Transfusão sanguínea	1/42 (2,40%)	0	0,47
Hemorragia pulmonar	0	0	-
Hemorragia intracraniana	0	0	-
Enterocolite necrosante	0	0	-
Sepse neonatal	1/42 (2,40%)	1/50 (2,00%)	0,90
Hipoglicemia neonatal	3/42 (7,10%)	1/50 (2,00%)	0,32
Necessidade de UTI neonatal	5/42 (11,90%)	6/50 (12,00%)	0,99
Necessidade de IOT	2/42 (4,80%)	1/50 (2,00%)	0,59
Óbito neonatal	0	0	-
Dias de internação dos RN	5,85	3,96	0,09

Nota: n: número de casos, p: nível descritivo de probabilidade.

Afim de analisar de forma mais clara a relação entre a icterícia e a classificação do peso no nascimento optou-se por analisar os fetos que apresentaram icterícia (n=27) e compará-los com os que não apresentaram

(n=65). Ao analisar a idade gestacional do parto, observamos diferença significativa entre eles ($p < 0,01$), com média e desvio padrão dos grupos de $38,08 \pm 1,24$ semanas e $39,65 \pm 1,02$ semanas, respectivamente. Do mesmo modo, no grupo PIG, em 21 (50%) casos os RN apresentaram icterícia em comparação ao grupo AIG, em que isso aconteceu com 6 (12%) RN ($p < 0,01$), como mostra a tabela 5.

Após o ajuste do modelo de regressão logística, observou-se que tanto a PIG quanto a idade gestacional do parto influenciaram estatisticamente na taxa de icterícia ($p < 0,01$), de forma independente. Os fetos do grupo PIG apresentam chance de icterícia 3,67 vezes maior em relação aos fetos do grupo AIG. Em relação à idade gestacional, cada semana adicional diminui em 64% a chance de icterícia, independentemente do diagnóstico de PIG (tabela 5).

Tabela 5 - Relação do PIG e da Idade Gestacional do Parto com a presença de icterícia neonatal nos grupo RCF e AIG – HC-FMUSP – São Paulo – 2014-2018

Variável	Icterícia		OR Não ajustado	IC (95%)		p	OR Ajustado	IC (95%)		p
	Não (N = 65)	Sim (N = 27)		Inferior	Superior			Inferior	Superior	
Grupo, n (%)						<0,001*				0,030
Grupo PIG	21 (50)	21 (50)	7,33	2,58	20,87		3,67	1,13	11,90	
Grupo AIG	44 (88)	6 (12)	1,00				1,00			
IG (semanas)			0,31	0,18	0,52	<0,001*	0,36	0,21	0,62	<0,001
média $\pm$ DP	39,7 $\pm$ 1	38,1 $\pm$ 1,2								
mediana (mín.; máx.)	39,9 (37; 41,4)	38,6 (35,4; 40)								

* Teste qui-quadrado; ** Teste t-Student; Ajuste pela regressão logística múltipla

Nota: DP: desvio-padrão, IC95%: intervalo de confiança 95%, máx: máximo, mín: mínimo, n: número de casos, OR: odds ratio, p: nível descritivo de probabilidade.

6. Discussão

É evidente a importância de identificar na prática clínica os fetos pequenos constitucionais, pois são fetos que se comportam de forma semelhante aos fetos com peso adequado para idade gestacional e, portanto, não apresentam risco aumentado para resultados perinatais adversos. Esses casos, infelizmente, não podem ser apontados com segurança durante o pré-natal, e, portanto, todos os fetos com peso abaixo do percentil 10 são seguidos no nosso serviço com o mesmo protocolo (ultrassonografia seriada e exames de vitalidade semanais).

Além de custos hospitalares altos, a ansiedade e o estresse gerados por esse diagnóstico apresentam grande impacto na vida dessas pacientes. Consequentemente, meios para a diferenciação do pequeno constitucional e restrito são altamente recomendáveis. Quando for possível fazer essa diferenciação com segurança, cerca de 50% dos casos de fetos com peso estimado abaixo do percentil 10 poderão continuar o seguimento no pré-natal de baixo risco.

Atualmente, a dopplervelocimetria dos vasos fetais e fetoplacentários é a mais utilizada para o estudo da resposta hemodinâmica fetal diante da hipóxia. Contudo, surgiram diversos estudos que demonstraram que apenas essa avaliação não é suficiente para descartar os casos mais leves de insuficiência placentária^{6,8,57,58}.

Figueras *et al.*, em 2007, em estudo retrospectivo, que comparou fetos PIG com dopplervelocimetria normal e fetos AIG, demonstraram risco mais elevado no primeiro grupo para admissão em unidade de terapia intensiva (15,5 versus 3.9%; $p < 0,01$), maior morbidade perinatal (2.3 versus 0%; $p < 0,01$), além de retardo no desenvolvimento neurológico⁶. Em outro estudo, realizado por McCowan *et al.* (2000), cerca de 1/4 dos RNs PIG com Doppler de AU normal durante a gestação apresentaram hipoglicemia⁸.

Outra pesquisa, realizada por Parra-Saavedra *et al.* (2013), demonstrou que gestações de fetos PIG e dopplervelocimetria de AU normal apresentavam placentas com alterações histológicas que refletiam insuficiência placentária latente e, em menor grau, inflamação crônica. Isso é consistente com o maior risco de resultados perinatais adversos relatados nessa população e da necessidade de novos marcadores de doença placentária²⁰.

Nos últimos anos, surgiram novas pesquisas com o intuito de avaliar outros parâmetros que pudessem auxiliar nessa diferenciação (pequeno constitucional x restrito). Amplo conjunto de evidências confirmou que a insuficiência placentária, presente em algumas condições obstétricas, como a RCF, desencadeia desequilíbrio na liberação placentária de fatores reguladores da angiogênese para a circulação materna⁴². Sabe-se que a função placentária é essencial para o crescimento fetal. Diferentes fatores angiogênicos são expressos na placenta e sua detecção na circulação materna pode ser útil como marcador da função placentária.

Nesse sentido, diversos estudos foram realizados com o objetivo de correlacionar os fatores angiogênicos com a RCF. O fator de crescimento placentário surgiu como um marcador que poderia auxiliar na avaliação da função placentária e na diferenciação dos restritos e pequenos constitucionais.

Triunfo *et al.* (2014) relataram que RNs pequenos para idade gestacional de início tardio e com Doppler da artéria umbilical normal apresentavam insuficiência placentária latente (confirmada pela histologia), associada ao desequilíbrio de fatores angiogênicos, incluindo o PIGF. Os autores propõem que o PIGF seja incluído no seguimento de casos de RCF tardia¹⁶. Outro estudo demonstrou que o PIGF apresenta correlação inversa com os valores do Doppler da artéria umbilical e a combinação das duas medidas poderia ser útil no rastreamento de gestações com maiores chances de complicações perinatais⁴⁷.

Em 2016, Valino *et al.* realizaram triagem na 36ª semana de gestação na qual a combinação de biomarcadores (PIGF e sFlit-1) ajudou a prever pré-eclâmpsia e RCF, porém não foi útil na previsão da morbidade perinatal⁵⁹. Gaccioli *et al.* (2018), avaliando também gestações de 36 semanas, concluíram que a combinação da ultrassonografia (peso fetal < p10) e os marcadores PIGF e sFlit-1 é fortemente preditivo de RCF, com razão de verossimilhança de 17,5 e sensibilidade e especificidade de 38% e 98%, respectivamente⁶⁰.

Baseados nesses relatos a proposta da presente pesquisa foi realizar um estudo prospectivo que compara o resultado perinatal de fetos pequenos para a idade gestacional com Doppler e PIGF normais e fetos adequados para a idade gestacional. A hipótese era que os resultados perinatais entre esses dois grupos seriam semelhantes. Na literatura pesquisada não foi encontrado estudo

semelhante a esse, com o grupo controle de fetos adequados para a idade gestacional.

Ao optar por coletar o sangue materno entre 35 e 37 semanas para a dosagem do PIGF, já estava disponível pelo menos um exame de Doppler umbilical nessa fase. Isso possibilitou não incluir os casos de Doppler já alterados, não dosando o PIGF. A escolha desta idade gestacional também possibilita a avaliação dos casos antes do termo, contribuindo para definição do melhor momento para o parto.

Na literatura pesquisada, a data de coleta do PIGF variou. No estudo de Benton *et al.* (2016), o PIGF foi dosado a partir de 20 semanas até o final da gestação num total de 441 pacientes (RCF de início precoce e tardio)²⁵. No estudo de Anderson *et al.* (2018), como foram incluídas apenas gestações acima de 32 semanas, a data de coleta do PIGF esteve entre 34 e 35 semanas, próxima da idade gestacional de coleta do presente estudo^[51]. Birdir *et al.* (2018) realizaram a coleta entre 32 e 37 semanas para avaliar a associação do PIGF com a restrição após 34 semanas de gestação⁵².

O PIGF coletado ao longo da gestação estará diminuído nos casos de insuficiência placentária (sendo que o percentil varia de acordo com a idade gestacional), portanto não são esperadas alterações importantes no valor preditivo positivo desse marcador por causa da idade gestacional da coleta. Apesar disso, o ideal para inserir esta dosagem no protocolo do presente estudo seria ter este período de coleta melhor definido, a fim de homogeneizar os estudos para a utilização do PIGF como um teste.

Ao avaliar os valores de PIGF encontrados entre os grupos verifica-se que não houve diferença significativa entre as médias, 323,9 pg/ml no grupo PIG e 404,0 pg/ml no grupo AIG. Com isto, excluindo-se os casos de PIGF anormal, houve médias semelhantes desse marcador e, portanto, maior homogeneidade entre os dois grupos. Isso pode explicar em parte os resultados perinatais também semelhantes.

A idade gestacional do parto apresentou diferença significativa entre os grupos (38,6 sem no grupo PIG x 39,7 sem no grupo AIG). Uma razão que pode ser apontada para essa diferença é que o grupo PIG teve indicação para interrupção da gestação por comorbidades maternas associadas em 28,6% dos

casos. Nesta situações a conduta pelo nosso protocolo é a resolução da gestação na 37^a semana.

A via de parto não demonstrou diferenças entre os dois grupos, predominando a cesariana em 52,4% do grupo PIG e 44,0% do grupo AIG. Para o grupo PIG, houve indicação de parto operatório em 18,1% dos casos por sofrimento fetal intraparto, em 18,1% por apresentação pélvica e em 13,6% por cirurgia uterina prévia. Para o grupo AIG, a cesariana foi indicada em 18,1% devido a desproporção céfalo-pélvica, em 18,1% por cirurgia uterina prévia e em 4,5% por apresentação pélvica. A alta taxa de parto operatório em ambos os grupos teve influência desses fatores.

Ao analisar o peso fetal de nascimento nota-se diferença significativa entre os grupos (média de peso de 2405,5g para o grupo PIG e de 3347,6g para o grupo AIG). Em 40% de casos do grupo PIG o percentil de peso foi menor que 3. Alguns estudos relatam que RN com peso abaixo do percentil 3 da curva de crescimento apresentam resultados perinatais piores do que os RN com peso entre os percentis 3-10, mesmo quando os valores da dopplervelocimetria da artéria umbilical estão normais^{19,20}. No presente estudo, apesar desse percentil de peso indicar maior gravidade e requerer maior vigilância, não foi observada diferença em relação aos resultados perinatais desses casos em comparação ao grupo AIG. Isso reforça a menor gravidade dessa condição quando outros marcadores estão normais, como o Doppler umbilical e o PIGF. Por outro lado, todos os oito casos de PIGF alterado (< percentil 5) pertenciam ao grupo PIG, e desses, em 87,5% das vezes o percentil de peso encontrava-se abaixo de 3. Esses casos foram excluídos da análise dos resultados perinatais. Anderson *et al.* (2018) relatam maior gravidade da RCF quando o percentil de peso < 3 (66% dos casos) associado a um PIGF diminuído. Não foi analisado o resultado perinatal nos casos de PIGF alterado pelo pequeno tamanho amostral.

Como já relatado, a literatura tem demonstrado, por inúmeros estudos, que fetos PIG com Doppler umbilical normal podem apresentar resultados perinatais adversos quando comparados a fetos AIG. O presente estudo, ao avaliar apenas os casos de PIGF normal, selecionou um grupo de menor risco e por isso, os casos mesmo com percentil de peso < 10 não mostraram diferença com o grupo AIG em relação a: pH de cordão umbilical, Apgar de 5º min < 7,

necessidade de transfusão sanguínea, hemorragia pulmonar, hemorragia intracraniana, enterocolite necrotizante, sepse, hipoglicemia, UTI neonatal, intubação orotraqueal, óbito e dias de internação.

A icterícia e a necessidade de fototerapia foram os únicos parâmetros estudados que apresentaram diferença significativa entre os grupos. No grupo PIG a icterícia ocorreu em 50% dos casos e 28% dos RN necessitaram de fototerapia. Já no grupo AIG, 12% apresentou icterícia e 8% necessidade de fototerapia. As taxas de icterícia foram maiores na presença do percentil de peso < 10 e quando a idade gestacional do parto era menor, de forma independente. Cada semana adicional para o parto diminuiu em 64% a chance de icterícia.

Benton *et al.* (2011 e 2016) e Anderson *et al.* (2018) utilizaram metodologia igual a desta pesquisa para aferir a concentração de PIGF (Triage PIGF – ALERE). Trata-se de método que pode ser utilizado no ambulatório e fornece o resultado em apenas 15 minutos, aliando praticidade e segurança. Esses estudos demonstraram que valores anormais de PIGF estão associados a maior frequência de cesariana por sofrimento fetal e piores resultados perinatais (menor idade gestacional, menor peso de nascimento, menor pH de artéria umbilical, maiores taxas de Apgar de 5º minuto < 7 e de necessidade de UTI neonatal). Por outro lado, quando o PIGF se encontra normal, um tratamento expectante pode melhorar os resultados neonatais.

De acordo com os resultados obtidos é possível concluir que os grupos estudados (RCF e AIG), quando apresentavam Doppler umbilical e PIGF dentro da normalidade, mostraram-se semelhantes em relação aos resultados perinatais, com exceção das taxas de icterícia e necessidade de fototerapia. Essas diferenças refletem o efeito da idade gestacional do parto mais precoce.

A medida sérica do PIGF no ambulatório, como um teste rápido, pode ser ferramenta útil na prática clínica e auxiliar na diferenciação do restrito tardio e pequeno constitucional, possibilitando maior segurança na conduta expectante. Assim, consiste em mais um passo importante para que essas pacientes no futuro possam ser tranquilizadas e encaminhadas de volta ao pré-natal de baixo risco para o acompanhamento habitual até o parto. Novos estudos com novos marcadores são necessários para um diagnóstico cada vez mais preciso dessa condição.

7. Conclusão

O presente estudo comparou resultados perinatais em fetos pequenos para a idade gestacional com Doppler umbilical normal e fetos adequados para a idade gestacional, ambos com PIGF normal, e permitiu concluir que não houve diferença entre os grupos, com exceção de icterícia e necessidade de fototerapia maior para o grupo PIG.

No entanto, essas diferenças observadas refletem o efeito da idade gestacional do parto mais precoce, de forma independente.

Além disso, não foi observada diferença significativa entre os grupos PIG e AIG em relação à concentração de PIGF.

Anexo 1- Termo de consentimento pós-informação

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA : Avaliação do fator de crescimento placentário no crescimento fetal restrito e dopplervelocimetria umbilical normal: resultados obstétricos e neonatais.

PESQUISADOR : Silvio Martinelli

CARGO/FUNÇÃO: Médico Assistente

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 70843 / SP

UNIDADE DO HCFMUSP: ICHC – Departamento de Obstetrícia e Ginecologia – Disciplina de Obstetrícia

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☒RISCO MÉDIO ☐RISCO BAIXO ☐RISCO MAIOR ☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 36 meses

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

Essa pesquisa será realizada com 100 gestantes que estão realizando o pré-natal no Ambulatório de Obstetrícia do Hospital das Clínicas. Este estudo tem como objetivo avaliar se você apresenta alguma alteração no sangue relacionada com o funcionamento normal da placenta. Se o bebê em algum momento apresentar crescimento menor que o esperado durante a gravidez, isso pode ajudar a saber se será necessário antecipar o parto ou não, no futuro. Se você concordar em participar deste estudo ocorrerá o seguinte: você será convidada a colher uma pequena quantidade de sangue (10 ml) e este sangue será guardado congelado no Laboratório. O resultado do exame será lido por um pequeno aparelho, no final do estudo. Isso vai acontecer quando você estiver no 7º e no 8º mês de gravidez. Você poderá se recusar a colher esse sangue a qualquer momento. A placenta, depois do nascimento do bebê, também será analisada no laboratório de Anatomia Patológica e ajudará com informações sobre os motivos que levaram ao baixo peso da criança. Precisamos saber se esse material (sangue e placenta) pode ser doado para ser usado em outras pesquisas científicas e se há necessidade de consultá-la antes. Isso pode ser útil para descobrirmos outras causas e tratamentos para esse problema de crescimento do bebê. Por favor responda abaixo:

() Sim. Eu quero ser consultada para autorizar ou não cada pesquisa futura com o meu material.

() Não. Eu dispenso a autorização para cada pesquisa e estou informada que a Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas (CAPPesq) irá examinar a nova pesquisa e decidir sobre a utilização ou não do material que eu estou doando.

Em qualquer etapa do estudo, você poderá ter acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr Silvio Martinelli que pode ser encontrado no Instituto Central – 10º andar – Disciplina de Obstetrícia, no telefone(s) 2661-6209. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br.

Você pode desistir de participar do estudo a qualquer momento sem que isso prejudique seu atendimento de saúde de boa qualidade. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Todos os dados obtidos serão utilizados somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informada a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo: **“Fator de crescimento placentário na identificação de fetos pequenos constitucionais: resultados obstétricos, neonatais e características histológicas das placentas”**.

Eu discuti com o Dr Silvio Martinelli ou com algum profissional de sua equipe sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Data: ____ / ____ / ____

Assinatura do paciente/representante
legal

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Data: ____ / ____ / ____

Assinatura do responsável pelo estudo

Anexo 2- Aprovação da pesquisa pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPESQ)

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DA
USP - HCFMUSP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: FATOR DE CRESCIMENTO PLACENTÁRIO NA IDENTIFICAÇÃO DE FETOS PEQUENOS CONSTITUCIONAIS: RESULTADOS OBSTÉTRICOS, NEONATAIS E CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DAS PLACENTAS.

Pesquisador: Sílvio Martinelli

Área Temática:

Versão:

CAAE: 33647914.6.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 742.497

Data da Relatoria: 06/08/2014

Apresentação do Projeto:

A diferenciação entre fetos com restrição de crescimento fetal (RCF) e pequenos constitucionais (PqC) mostra-se essencial na prática clínica. A falha na invasão trofoblástica pode alterar a síntese de substâncias pelo trofoblasto, aumentando a produção de citocinas pró-inflamatórias, fatores angiogênicos e antiangiogênicos. Na RCF parece haver uma diminuição tanto da circulação no sangue materno como da expressão placentária de um fator angiogênico, o fator de crescimento placentário (PIGF). Serão selecionadas 100 gestantes com níveis normais de PIGF (entre 28 e 31 semanas e 33 a 36 semanas) e divididas em dois grupos de acordo com a adequação do peso para a idade gestacional (ultrassonografia obstétrica): fetos com peso estimado abaixo do percentil 10 para a idade gestacional e dopplervelocimetria de artéria umbilical normal (50) e fetos com peso estimado entre os percentis 25 e 75 para a idade gestacional (50). A detecção das concentrações de PIGF circulante será realizada por meio do teste Triage® PLGF (RapidQuantitative Test for PlacentalGrowthFactor) ALERE. Todas as gestantes serão incluídas sob termo de consentimento informado aprovado pela Comissão de Análise de Projeto de Pesquisa (CAPPESQ) do hospital. Para a seleção das gestantes, será realizada a dopplervelocimetria da artéria umbilical e será considerado normal os valores de índice de pulsatilidade (IP) abaixo do P95 de acordo com curva de normalidade de Arduini e Rizzo (1990). Também será realizada a dosagem sérica de PIGF,

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DA
USP - HCFMUSP

Continuação do Parecer: 742.497

através da punção venosa entre 28 e 31 semanas e 33 e 36 semanas. Um teste positivo será definido quando a concentração do PIGF for inferior ao percentil 5 para a IG de controles normais, segundo curva de referência de Knudsen et al. (2011). 100 gestantes com níveis séricos de PIGF normais serão separadas em dois grupos: Grupo 1-pacientes com peso fetal estimado. Critério de Inclusão: -Gestação única com feto vivo e idade gestacional (IG) a partir de 31 semanas- Mulheres não tabagistas- IG confiável (data da última menstruação concordante com exame ultrassonográfico até 20 semanas); - Valores de referência de PIGF, dentro da normalidade (> percentil 5 para a idade gestacional), segundo curva de referência de Knudsen et al. (2011) 3.2.1.1.1 Grupo I (estudo)- Doppler de artéria umbilical com IP percentil 95 para a IG, de acordo com a curva de referência (Arduini e Rizzo, 1990). - Peso fetal estimado percentil 10 para IG segundo a curva de Hadlock et al. (1994) 3.2.1.1.2 Grupo II (controle)- Gestantes saudáveis- Peso fetal estimado entre p25 e p75 para IG da curva de referência. Critério de Exclusão: -Peso do RN maior que p10 para a idade gestacional segundo a curva de Alexander et al. (1996) para o grupo I - Peso do RN menor que p25 ou maior que p75 para a idade gestacional segundo a curva de Alexander et al. (1996) para o grupo II - Anormalidades anatômicas e/ou cromossômicas no RN - Doppler de artéria umbilical anormal durante o seguimento- Parto não realizado no HC.

Os grupos serão comparados quanto a resultados obstétricos e neonatais e quanto a características histológicas observadas nas placentas. Para a análise estatística serão utilizados os testes de Qui-Quadrado, exato de Fisher e Kruskal Wallis e será adotado o nível de significância de 5%.

Objetivo da Pesquisa:

O presente estudo selecionará gestantes com níveis normais de PIGF e as dividirá em dois grupos de acordo com a adequação de peso para a IG (Grupo 1: fetos com peso estimado p10 e a dopplervelocimetria umbilical normal e Grupo 2: fetos com peso estimado entre p25 e p75) e tem por objetivo primário comparar os resultados obstétricos e neonatais entre os dois grupos, e por objetivo secundário comparar características histológicas observadas nas placentas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos dos participantes neste estudo são mínimos e decorrentes de uma punção venosa para a coleta de sangue. A confirmação de que a dosagem normal de PIGF pode identificar os fetos pequenos constitucionais e que esses apresentam bom prognóstico, assim como fetos com peso entre p25 e p75, permitiria evitar a monitorização desnecessária desses fetos pequenos constitucionais e com isso reduzir gastos de saúde, permitindo uma maior atenção aos fetos com

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DA
USP - HCFMUSP**

Continuação do Parecer: 742.497

restrição de crescimento (alto risco). Além de reduzir a ansiedade dos pais uma vez que o acompanhamento dos fetos pequenos constitucionais seria semelhante aos fetos com peso normal (baixo risco).

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo clínico, longitudinal e prospectivo com métodos adequados para a demonstração dos objetivos. É de muita importância para o esclarecimento, diferenciação e evolução de fetos pequenos constitucionais daqueles com crescimento intra-uterino restrito.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os pesquisadores anexaram: anuência da Chefia do Berçário para o acompanhamento dos recém-nascidos; anuência da Chefia da Divisão de Anatomia Patológica designando um médico responsável pela pesquisa; folha de rosto devidamente preenchida; TCLE claro e objetivo de fácil entendimento para os leigos; regulamento de biorrepositório; orçamento da pesquisa.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Estudo clínico, longitudinal e prospectivo com métodos adequados para a demonstração dos objetivos. É de muita importância para o esclarecimento e diferenciação de fetos pequenos constitucionais daqueles com crescimento intra-uterino restrito. Não há impedimentos éticos sob a óptica da legislação vigente para que seja desenvolvido.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DA
USP - HCFMUSP

Continuação do Parecer: 742.497

SAO PAULO, 07 de Agosto de 2014

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Anexo 3 - Instrumento de coleta de dados

Data da entrevista : ____/____/____

Protocolo no. _____

Identificação

Nome _____

RGHC _____

Telefone contato _____ Data de nasc.: ____/____/____ Idade: _____ anos

Cor: () Branca () Não branca

Número de gestações _____ Filhos vivos _____

Número de partos anteriores _____ Quantos partos vaginais _____

Quantas cesáreas _____ Quantos Fórcepe _____ Outros _____

Resultados Obstétricos

Cardiotocografia fetal intraparto alterada () sim () não

Tipo de parto () vaginal () cesáreo

Indicações de resolução: _____

Início do trabalho de parto: () espontâneo () misoprostol () ocitocina

Idade Gestacional no dia do parto (semanas): _____

Peso do RN (gramas): _____

Apgar no 5º minuto (média): _____

Apgar no 5º minuto < 7: () sim () não

Valor do pH (média): _____

pH < 7,2: () sim () não

Resultados Neonatais

Necessidade de IOT durante internação: () sim () não

UTI: () sim () não

Tempo de internação da UTI (dias): _____

Hemorragia pulmonar: () sim () não

Hemorragia intracraniana: () sim () não

Enterocolite necrosante: () sim () não

Sepse neonatal: () sim () não

Hipoglicemia: () sim () não

Icterícia neonatal: () sim () não

Necessidade de fototerapia: () sim () não

Necessidade de exsanguíneo-transfusão: () sim () não

Tempo de internação dos RNs: _____

Ocorrência de óbito neonatal: () sim () não

9. Referências Bibliográficas

1. Gardosi, J., et al., *Classification of stillbirth by relevant condition at death (ReCoDe): population based cohort study*. BMJ, 2005. 331(7525): p. 1113-7.
2. Zugaib, M., R.E. Bittar, and R.P.V. Francisco, *Protocolos Assistenciais da Clínica Obstétrica da faculdade de medicina da USP*. 5th ed. 2015, São Paulo: Atheneu.
3. Bamfo, J.E. and A.O. Odibo, *Diagnosis and management of fetal growth restriction*. J Pregnancy, 2011. 2011: p. 640715.
4. Alberry, M. and P. Soothill, *Management of fetal growth restriction*. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2007. 92(1): p. F62-7.
5. Society for Maternal-Fetal Medicine Publications, C., et al., *Doppler assessment of the fetus with intrauterine growth restriction*. Am J Obstet Gynecol, 2012. 206(4): p. 300-8.
6. Figueras, F., et al., *Small-for-gestational-age fetuses with normal umbilical artery Doppler have suboptimal perinatal and neurodevelopmental outcome*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2008. 136(1): p. 34-8.
7. Illa, M., et al., *Growth deficit in term small-for-gestational fetuses with normal umbilical artery Doppler is associated with adverse outcome*. J Perinat Med, 2009. 37(1): p. 48-52.
8. McCowan, L.M., J.E. Harding, and A.W. Stewart, *Umbilical artery Doppler studies in small for gestational age babies reflect disease severity*. BJOG, 2000. 107(7): p. 916-25.
9. Schreurs, C.A., B.W. Mol, and M.A. de Boer, *Re: Consensus definition for placental fetal growth restriction: a Delphi procedure*. Ultrasound Obstet Gynecol, 2017. 49(1): p. 159.
10. Clark, D.E., et al., *Comparison of expression patterns for placenta growth factor, vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF-B and VEGF-C in the human placenta throughout gestation*. J Endocrinol, 1998. 159(3): p. 459-67.
11. Asvold, B.O., et al., *Angiogenic factors in maternal circulation and the risk of severe fetal growth restriction*. Am J Epidemiol, 2011. 173(6): p. 630-9.
12. Crispi, F., et al., *Predictive value of angiogenic factors and uterine artery Doppler for early- versus late-onset pre-eclampsia and intrauterine growth restriction*. Ultrasound Obstet Gynecol, 2008. 31(3): p. 303-9.
13. Romero, R., et al., *A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate*. J Matern Fetal Neonatal Med, 2008. 21(1): p. 9-23.
14. Shibata, E., et al., *Soluble fms-like tyrosine kinase 1 is increased in preeclampsia but not in normotensive pregnancies with small-for-gestational-age neonates: relationship to circulating placental growth factor*. J Clin Endocrinol Metab, 2005. 90(8): p. 4895-903.
15. Soto, E., et al., *Late-onset preeclampsia is associated with an imbalance of angiogenic and anti-angiogenic factors in patients with and without*

- placental lesions consistent with maternal underperfusion. J Matern Fetal Neonatal Med*, 2012. 25(5): p. 498-507.
16. Triunfo, S., et al., *Angiogenic factors at diagnosis of late-onset small-for-gestational age and histological placental underperfusion. Placenta*, 2014. 35(6): p. 398-403.
 17. Benton, S.J., et al., *Can placental growth factor in maternal circulation identify fetuses with placental intrauterine growth restriction? Am J Obstet Gynecol*, 2012. 206(2): p. 163 e1-7.
 18. Figueras, F., et al., *Predictiveness of antenatal umbilical artery Doppler for adverse pregnancy outcome in small-for-gestational-age babies according to customised birthweight centiles: population-based study. BJOG*, 2008. 115(5): p. 590-4.
 19. Savchev, S., et al., *Estimated weight centile as a predictor of perinatal outcome in small-for-gestational-age pregnancies with normal fetal and maternal Doppler indices. Ultrasound Obstet Gynecol*, 2012. 39(3): p. 299-303.
 20. Parra-Saavedra, M., et al., *Placental findings in late-onset SGA births without Doppler signs of placental insufficiency. Placenta*, 2013. 34(12): p. 1136-41.
 21. Spinillo, A., et al., *Placental histopathological correlates of umbilical artery Doppler velocimetry in pregnancies complicated by fetal growth restriction. Prenat Diagn*, 2012. 32(13): p. 1263-72.
 22. Vedmedovska, N., et al., *Placental pathology in fetal growth restriction. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2011. 155(1): p. 36-40.
 23. Bakalis, S., et al., *Prediction of small-for-gestational-age neonates: screening by maternal biochemical markers at 30-34 weeks. Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015. 46(2): p. 208-15.
 24. Bakalis, S., et al., *Prediction of small-for-gestational-age neonates: screening by biophysical and biochemical markers at 30-34 weeks. Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015. 46(4): p. 446-51.
 25. Benton, S.J., et al., *Placental growth factor as a marker of fetal growth restriction caused by placental dysfunction. Placenta*, 2016. 42: p. 1-8.
 26. Chang, Y.S., et al., *The sFlt-1/PlGF ratio as a predictor for poor pregnancy and neonatal outcomes. Pediatr Neonatol*, 2017.
 27. Lobmaier, S.M., et al., *Angiogenic factors vs Doppler surveillance in the prediction of adverse outcome among late-pregnancy small-for-gestational-age fetuses. Ultrasound Obstet Gynecol*, 2014. 43(5): p. 533-40.
 28. Zhong, Y., M. Tuuli, and A.O. Odibo, *First-trimester assessment of placenta function and the prediction of preeclampsia and intrauterine growth restriction. Prenat Diagn*, 2010. 30(4): p. 293-308.
 29. Vuorela, P., et al., *Expression of vascular endothelial growth factor and placenta growth factor in human placenta. Biol Reprod*, 1997. 56(2): p. 489-94.
 30. Regnault, T.R., et al., *Placental development in normal and compromised pregnancies-- a review. Placenta*, 2002. 23 Suppl A: p. S119-29.
 31. Shibuya, M., *Structure and function of VEGF/VEGF-receptor system involved in angiogenesis. Cell Struct Funct*, 2001. 26(1): p. 25-35.
 32. Makrydimas, G., et al., *Physiological distribution of placental growth factor and soluble Flt-1 in early pregnancy. Prenat Diagn*, 2008. 28(3): p. 175-9.

33. Breier, G., et al., *Expression of vascular endothelial growth factor during embryonic angiogenesis and endothelial cell differentiation*. Development, 1992. 114(2): p. 521-32.
34. Herse, F., et al., *Adipose tissue-derived soluble fms-like tyrosine kinase 1 is an obesity-relevant endogenous paracrine adipokine*. Hypertension, 2011. 58(1): p. 37-42.
35. Lappas, M., *Markers of endothelial cell dysfunction are increased in human omental adipose tissue from women with pre-existing maternal obesity and gestational diabetes*. Metabolism, 2014. 63(6): p. 860-73.
36. Lemoine, A.Y., S. Ledoux, and E. Larger, *Adipose tissue angiogenesis in obesity*. Thromb Haemost, 2013. 110(4): p. 661-8.
37. Major, H.D., et al., *Synthesis of sFlt-1 by platelet-monocyte aggregates contributes to the pathogenesis of preeclampsia*. Am J Obstet Gynecol, 2014. 210(6): p. 547 e1-7.
38. Shibuya, M., *Vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1/Flt-1): a dual regulator for angiogenesis*. Angiogenesis, 2006. 9(4): p. 225-30; discussion 231.
39. Lam, C., K.H. Lim, and S.A. Karumanchi, *Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia*. Hypertension, 2005. 46(5): p. 1077-85.
40. Tsatsaris, V., et al., *Overexpression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor in preeclamptic patients: pathophysiological consequences*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. 88(11): p. 5555-63.
41. Welch, P.C., et al., *Correlations of placental perfusion and PlGF protein expression in early human pregnancy*. Am J Obstet Gynecol, 2006. 194(6): p. 1625-9; discussion 1629-31.
42. Herraiz, I., et al., *Angiogenesis-Related Biomarkers (sFlt-1/PLGF) in the Prediction and Diagnosis of Placental Dysfunction: An Approach for Clinical Integration*. Int J Mol Sci, 2015. 16(8): p. 19009-26.
43. Lash, G.E., et al., *Vascular endothelial growth factor and placental growth factor release in cultured trophoblast cells under different oxygen tensions*. Growth Factors, 2002. 20(4): p. 189-96.
44. Torry, D.S., et al., *Preeclampsia is associated with reduced serum levels of placenta growth factor*. Am J Obstet Gynecol, 1998. 179(6 Pt 1): p. 1539-44.
45. Taylor, R.N., et al., *Longitudinal serum concentrations of placental growth factor: evidence for abnormal placental angiogenesis in pathologic pregnancies*. Am J Obstet Gynecol, 2003. 188(1): p. 177-82.
46. Wallner, W., et al., *Angiogenic growth factors in maternal and fetal serum in pregnancies complicated by intrauterine growth restriction*. Clin Sci (Lond), 2007. 112(1): p. 51-7.
47. Schlembach, D., et al., *Angiogenic growth factor levels in maternal and fetal blood: correlation with Doppler ultrasound parameters in pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction*. Ultrasound Obstet Gynecol, 2007. 29(4): p. 407-13.
48. Triunfo, S., et al., *Angiogenic Factors and Doppler Evaluation in Normally Growing Fetuses at Routine Third-Trimester Scan: Prediction of Subsequent Low Birth Weight*. Fetal Diagn Ther, 2016. 40(1): p. 13-20.

49. Miranda, J., et al., *Prediction of fetal growth restriction using estimated fetal weight vs a combined screening model in the third trimester*. Ultrasound Obstet Gynecol, 2017. 50(5): p. 603-611.
50. Knudsen, U.B., et al., *A single rapid point-of-care placental growth factor determination as an aid in the diagnosis of preeclampsia*. Pregnancy Hypertens, 2012. 2(1): p. 8-15.
51. Anderson, N., et al., *Placental growth factor as an indicator of fetal growth restriction in late-onset small-for-gestational age pregnancies*. Aust N Z J Obstet Gynaecol, 2019. 59(1): p. 89-95.
52. Birdir, C., et al., *Predictive value of sFlt-1, PIGF, sFlt-1/PIGF ratio and PAPP-A for late-onset preeclampsia and IUGR between 32 and 37 weeks of pregnancy*. Pregnancy Hypertens, 2018. 12: p. 124-128.
53. Baekgaard Thorsen, L.H., et al., *Prediction of birth weight small for gestational age with and without preeclampsia by angiogenic markers: an Odense Child Cohort study*. J Matern Fetal Neonatal Med, 2018: p. 1-8.
54. Arduini, D. and G. Rizzo, *Normal values of Pulsatility Index from fetal vessels: a cross-sectional study on 1556 healthy fetuses*. J Perinat Med, 1990. 18(3): p. 165-72.
55. Hadlock, F.P., R.B. Harrist, and J. Martinez-Poyer, *In utero analysis of fetal growth: a sonographic weight standard*. Radiology, 1991. 181(1): p. 129-33.
56. Fenton, T.R. and J.H. Kim, *A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants*. BMC Pediatr, 2013. 13: p. 59.
57. Gaziano, E.P., et al., *Is it time to reassess the risk for the growth-retarded fetus with normal Doppler velocimetry of the umbilical artery?* Am J Obstet Gynecol, 1994. 170(6): p. 1734-41; discussion 1741-3.
58. Trudinger, B.J., et al., *Fetal umbilical artery velocity waveforms and subsequent neonatal outcome*. Br J Obstet Gynaecol, 1991. 98(4): p. 378-84.
59. Valino, N., et al., *Biophysical and biochemical markers at 35-37 weeks' gestation in the prediction of adverse perinatal outcome*. Ultrasound Obstet Gynecol, 2016. 47(2): p. 203-9.
60. Gaccioli, F., et al., *Screening for fetal growth restriction using ultrasound and the sFLT1/PIGF ratio in nulliparous women: a prospective cohort study*. Lancet Child Adolesc Health, 2018. 2(8): p. 569-581.