

CARLA FAGUNDES SILVA DE PAULA

**Avaliação do volume e dos índices placentários por meio
da ultrassonografia tridimensional, e suas relações
com dados clínicos e laboratoriais maternos,
em gestantes portadoras de diabetes pré-gestacional**

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

Programa de Obstetrícia e Ginecologia

Orientadora: Profa. Dra. Rossana Pulcineli Vieira
Francisco

Coorientadora: Dra. Mara Sandra Hoshida

**São Paulo
2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Paula, Carla Fagundes Silva de

Avaliação do volume e dos índices placentários por meio de ultrassonografia tridimensional, e suas relações com dados clínicos e laboratoriais maternos, em gestantes portadoras de diabetes pré-gestacional / Carla Fagundes Silva de Paula. -- São Paulo, 2014.

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

Programa de Obstetrícia e Ginecologia.

Orientadora: Rossana Pulcineli Vieira Francisco.

Coorientadora: Mara Sandra Hoshida.

Descritores: 1.Placenta 2.Volume do órgão 3.Imagem tridimensional
4.Diabetes Mellitus 5.Gravidez 6.Ultrassonografia Doppler 7.Marcadores biológicos

USP/FM/DBD-175/14

A Deus,
por tudo de bom que tenho recebido.

Ao meu marido **Gilvan,**
por suas palavras de apoio, compreensão,
companheirismo, amizade e amor.

As minhas filhas **Letícia e Larissa,**
por existirem e darem sentido a minha vida e por tornarem os bons
momentos mais felizes e os mais difíceis mais amenos.

Aos meus pais **Alcides e Terezinha,**
por toda vida dedicada a mim, pelos conselhos, pelo amor
e principalmente, pelo exemplo de vida.

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Marcelo Zugaib**, digníssimo Professor Titular da Disciplina de Obstetrícia do Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela acolhida e oportunidade de realizar este estudo.

À **Profa. Dra. Rossana Pucineli Vieira Francisco**, pelo voto de confiança, de apoio nas horas difíceis, por sua participação imprescindível neste trabalho, e também por sua amizade, companheirismo, valiosos ensinamentos e incentivo à concretização deste sonho.

À **Dra. Mara Sandra Hoshida**, pelo incentivo ao meu aprimoramento científico e pela ajuda na realização deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Mário Henrique Burlacchini de Carvalho**, pela cuidadosa avaliação e pelas sugestões na qualificação deste trabalho, fundamentais para o seu término.

À **Dra. Alessandra Cristina Marcolin**, pelas críticas construtivas feitas na qualificação desta tese.

À **Dra. Lisandra Stein Bernardes Ciampi de Andrade**, pelas ideias na elaboração desta tese e pelas sugestões apropriadas na qualificação.

Ao **Dr. Rodrigo Rocha Codarin** e à **Dra. Rafaela Alkmin da Costa**, pela grande colaboração durante todo o projeto, sobretudo na fase de conclusão.

À **Sra. Salet Souza**, pelo auxílio imprescindível na coleta de sangue das pacientes deste estudo.

À **Srta. Melaine Oliveira**, pela ajuda na análise estatística deste trabalho.

Aos amigos **Pedro Paulo Pereira, Eduardo Pimenta, Janaína Negrão**, pela amizade, pelo auxílio e apoio durante a realização deste trabalho.

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

À **Srta. Adriana**, secretária da pós-graduação, por sua competente ajuda nos atos burocráticos.

Aos funcionários: **Lucinda, Raquel e Alan**, pela colaboração necessária à feitura deste trabalho.

À **Profa. Maria Nilce Pereira**, por sua efetiva contribuição na revisão final deste texto.

À **equipe de enfermagem** da Clínica Obstétrica do HCFMUSP, pela colaboração e disponibilidade.

Às **pacientes**, por sua participação neste estudo e pela lição de solidariedade.

A verdadeira medida de um homem não é como ele se comporta em momentos de conforto e conveniência, mas como ele se mantém em tempos de controvérsia e desafio.

(Martin Luther King)

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

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

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

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Annelise Carneiro da Cunha, Maria Júlia 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.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE GRÁFICOS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

SUMMARY

1 INTRODUÇÃO.....	2
2 OBJETIVOS	17
3 PACIENTES E MÉTODOS.....	19
3.1 Desenho do estudo.....	19
3.2 Pacientes	19
3.2.1 Seleção das pacientes (grupo estudo).....	19
3.2.1.1 Critérios de inclusão	19
3.2.1.2 Critérios de exclusão.....	20
3.2.1.3 Gestantes sem intercorrências clínicas.....	20
3.3 Métodos	20
3.3.1 Coleta de dados.....	20
3.3.2 Instrumento de coleta de dados.....	22
3.3.2.1 Aparelho utilizado	23
3.3.2.2 Técnica de execução dos exames ultrassonográficos.....	23
3.3.3 Técnica para a dosagem de PIGF e sFLT – 1	27
3.4 Análise estatística	29
3.4.1 Cálculo amostral	29
3.4.2 Comparação entre os grupos e estudo das correlações.....	29
3.5 Características da população estudada (grupo de pacientes com diabetes pré-gestacional).....	31
4 RESULTADOS	37
4.1 Volume placentário, índices vasculares e IP da artéria uterina mensurados pela ultrassonografia tridimensional com <i>power</i> Doppler e agrupados por idade gestacional em pacientes diabéticas pré-gestacionais e grupo de gestantes sem intercorrências clínicas	37

4.2 Correlações entre volume placentário e índices vasculares em pacientes com diabetes pré-gestacional	43
4.2.1 Correlação entre o volume placentário e índices vasculares em pacientes com diabetes pré-gestacional	44
4.2.2 Correlação entre o volume placentário e os índices vasculares com as dosagens de hemoglobina glicada, tempo de instalação da doença e presença de vasculopatia.....	45
4.2.3 Correlação entre o volume placentário e índices vasculares com o Doppler das artérias uterina e umbilical	47
4.2.4 Correlação entre o volume placentário e índices vasculares com os fatores angiogênicos (PIGF e sFLT -1)	47
4.2.5 Correlação entre o volume placentário e índices vasculares com a idade gestacional no parto, peso do recém-nascido e peso da placenta.....	48
5 DISCUSSÃO.....	51
6 CONCLUSÕES.....	62
7 ANEXOS.....	65
ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	65
ANEXO B - Protocolo: medidas do volume placentário e quantificação da vascularização placentária pela ultrassonografia tridimensional em gestantes diabéticas pré-gestacionais	67
ANEXO C - Aprovação do Projeto pela Comissão de Ética	68
8 REFERÊNCIAS	70

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

2D	Bidimensional
3D	Tridimensional
CCN	Comprimento Cabeça-Nádega
<i>et al.</i>	e outros
EUA	Estados Unidos da América
g	grama(s)
GE	<i>General Electric</i>
HbA1c	Hemoglobina Glicada
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IF	Índice de Fluxo
IG	Idade Gestacional
IP	Índice de Pulsatilidade
IV	Índice de Vascularização
IVF	Índice de Vascularização e Fluxo
LIM57	Laboratório de Investigação Médica 57
MHz	megahertz
ml	mililitro
nm	nanômetro
<i>p</i>	Nível de Significância
P 10	Percentil 10
PFE	Peso Fetal Estimado
pg	picograma
PIG	Pequeno para a Idade Gestacional
PIGF	Fator de Crescimento Placentário
PP13	Proteína placentária 13
<i>r</i>	Coeficiente de correlação

RCF	Restrição de Crescimento Fetal
rpm	Revoluções por Minuto
sFLT-1	Fração solúvel da proteína tirosina quinase semelhante ao fms (receptor do fator estimulador de colônia do tipo 1)
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
US	Ultrassonografia
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
VOCAL	<i>Virtual Organ Computer-Aided Analysis</i>
VP	Volume Placentário

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Sonograma ilustrativo das artérias: uterina e umbilical.....	24
Figura 2	Captação da placenta pela ultrassonografia 3D com <i>power</i> Doppler pelo método VOCAL.....	26
Figura 3	Cálculo automático do volume placentário em cm ³ e dos índices de vascularização (histograma <i>power</i> Doppler tridimensional) pela ultrassonografia 3D com <i>power</i> Doppler pelo método VOCAL	27

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Volume placentário (cm ³) de acordo com a idade gestacional (semanas) em gestantes diabéticas pré-gestacionais e no grupo-controle pela US 3D- HCFMUSP – 2013.....	39
Gráfico 2	Índice de Vascularização (%) de acordo com a idade gestacional (semanas) em gestantes diabéticas pré-gestacionais e no grupo-controle pela US 3D – HCFMUSP – 2013.....	40
Gráfico 3	Índice de Fluxo (valor absoluto) de acordo com a idade gestacional (semanas) em gestantes diabéticas pré-gestacionais e no grupo-controle pela US 3D – HCFMUSP – 2013.....	41
Gráfico 4	Índice de Vascularização e Fluxo de acordo com a idade gestacional (semanas) em gestantes diabéticas pré-gestacionais e no grupo-controle pela US 3D – HCFMUSP – 2013.....	42
Gráfico 5	Índice de pulsatilidade da artéria uterina de acordo com a idade gestacional (semanas) em gestantes diabéticas pré-gestacionais e no grupo-controle pela US 3D – HCFMUSP – 2013.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Apresentação das porcentagens de gestantes com diabetes tipo I com e sem vasculopatia, e sua relação com fetos pequenos e restritos – adaptado de Haeri <i>et al.</i> , 2008.....	3
Tabela 2	Distribuição das gestantes segundo a exclusão das pacientes na 2ª avaliação – HCFMUSP – 2013	31
Tabela 3	Valores de hemoglobina glicada nas avaliações de 12 a 16 semanas e de 20 a 25 semanas das pacientes com diabetes pré-gestacional – HCFMUSP – 2013	32
Tabela 4	Localização ultrassonográfica da placenta - HCFMUSP – 2013.....	33
Tabela 5	Distribuição das gestantes de acordo com a paridade - HCFMUSP – 2013	33
Tabela 6	Resolução da gestação – HCFMUSP – 2013.....	34
Tabela 7	Caracterização das gestantes estudadas quanto à via de parto – HCFMUSP – 2013.....	34
Tabela 8	Classificação do recém-nascido segundo peso ao nascimento em pacientes com diabetes pré-gestacional – HCFMUSP – 2013	35
Tabela 9	Divisão dos grupos por idade gestacional entre as pacientes com diabetes pré-gestacional e o grupo-controle – HCFMUSP – 2013	37
Tabela 10	Comparação entre o grupo-controle e o grupo de pacientes com diabetes pré-gestacional de acordo com os índices placentários e os valores do Doppler da artéria uterina – HCFMUSP – 2013.....	38
Tabela 11	Correlações parciais controladas pela idade gestacional entre o volume e os índices placentários em pacientes com diabetes pré-gestacional – HCFMUSP- 2013	44
Tabela 12	Correlações parciais controladas pela idade gestacional entre o volume e os índices placentários em pacientes com diabetes pré-gestacional com tempo de doença e a hemoglobina glicada (tempo 1 e 2) – HCFMUSP – 2013	45

Tabela 13	Comparação entre o volume e índices placentários em pacientes com diabetes pré-gestacional nas diferentes idades gestacionais com e sem vasculopatia – HCFMUSP – 2013.....	46
Tabela 14	Correlações parciais controladas pela idade gestacional entre o volume e os índices placentários em pacientes com diabetes pré-gestacional com Doppler das artérias uterina e umbilical – HCFMUSP – 2013	47
Tabela 15	Correlações parciais controladas pela idade gestacional entre o volume e os índices placentários em pacientes com diabetes pré-gestacional com os fatores angiogênicos – HCFMUSP – 2013	48
Tabela 16	Correlações parciais controladas pela idade gestacional entre o volume e os índices placentários em pacientes com diabetes pré-gestacional com a idade gestacional no parto, o peso do recém-nascido e o peso da placenta – HCFMUSP – 2013	49

RESUMO

Paula CFS. *Avaliação do volume e índices placentários por meio da ultrassonografia tridimensional, e suas relações com dados clínicos e laboratoriais maternos, em gestantes portadoras de diabetes pré-gestacional* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

INTRODUÇÃO: O diabetes pré-gestacional apresenta elevados índices de morbidade perinatal, secundários ao ambiente metabólico anormal decorrente de hiperglicemia e com impacto significativo na evolução da gestação. A hiperglicemia, quando acontece em fases iniciais da gravidez, pode levar a alterações muito precoces na placenta, principalmente na fase da angiogênese a qual é regulada por fatores angiogênicos, como o fator de crescimento placentário (PIGF) e a fração solúvel da proteína tirosina quinase semelhante ao fms (sFLT-1). Este estudo teve por objetivo estudar o volume e os índices de vascularização placentária por meio da ultrassonografia tridimensional, em gestantes com diabetes pré-gestacional, e suas relações com dados clínicos e laboratoriais maternos. **MÉTODOS:** Foram estudadas 45 gestantes com diabetes pré-gestacional em duas avaliações (12 a 16 semanas) e (20 a 25 semanas) onde foram mensurados o volume placentário (VP) e os índices placentários: IV (índice de vascularização); IF (índice de fluxo) e IVF (índice de vascularização e fluxo) e o índice de pulsatilidade (IP) da artéria uterina. Estes foram comparados com gestantes de grupo controle nas mesmas idades gestacionais. O VP, IV, IF e IVF também foram correlacionados com dosagens de hemoglobina glicada (HbA_{1c}), tempo de instalação da doença, presença de vasculopatia diabética, Doppler da artéria uterina e umbilical, dosagens de PIGF e sFLT-1, idade gestacional ao nascimento, peso do recém-nascido e peso da placenta. **RESULTADOS:** O volume placentário em pacientes com diabetes pré-gestacional foi menor quando comparado com gestantes sem intercorrências clínicas nas idades gestacionais de 12 semanas e, entre 20 e 25 semanas. Em relação aos índices de vascularização, houve diferença estatisticamente significativa na 12^a semana de gestação, no IV e IVF quando comparadas gestações com diabetes pré-gestacional e sem intercorrências clínicas. O IP da artéria uterina foi significativamente maior em pacientes com diabetes pré-gestacional do que em gestantes sem intercorrências clínicas. Em relação à avaliação das pacientes diabéticas, houve correlação entre o tempo de instalação da doença e o volume placentário na segunda avaliação. As pacientes com diabetes pré-gestacional, com idade gestacional entre 20 e 25 semanas, com vasculopatia, apresentaram IV menor do que as pacientes sem vasculopatia nesta mesma idade gestacional. Houve correlação negativa entre o IV na primeira avaliação e o IP da artéria uterina na segunda avaliação. Observou-

se correlação positiva entre o IV na primeira avaliação e o PIGF na segunda avaliação e deste último com o VP na segunda avaliação. **CONCLUSÕES:** Observa-se que há menor volume da placenta e menores valores de IV e IVF em pacientes com diabetes pré-gestacional quando comparadas àquelas sem intercorrências clínicas, em determinadas idades gestacionais. Quando avaliam-se apenas as pacientes com diabetes pré-gestacional notam-se correlações entre a avaliação do volume e índices placentários com o tempo de instalação da doença, o IP da artéria uterina, a presença de vasculopatia diabética e o PIGF. Estes achados sugerem que a análise do volume e dos índices placentários pode ser útil no entendimento da fisiopatologia para o diagnóstico e o prognóstico de gestações em pacientes portadoras de diabetes pré-gestacional.

Descritores: Placenta; Volume do órgão; Imagem tridimensional; Diabetes Mellitus; Gravidez; Ultrassonografia doppler; Marcadores biológicos.

SUMMARY

Paula CFS. *Assessment of placental volume and indices by three-dimensional ultrasonography, and respective relationships with maternal clinical and laboratory data in pregnant women with pregestational diabetes* [Thesis]. São Paulo:School of Medicine, University of São Paulo; 2014

INTRODUCTION: Pregestational diabetes is associated with high rates of perinatal morbidity secondary to the abnormal metabolic environment resulting from hyperglycemia, and has a significant impact on evolution of the pregnancy. Hyperglycemia during the initial phases of pregnancy can lead to early changes in the placenta, particularly during the angiogenesis phase. This phase is regulated by angiogenic factors, such as placental growth factor (PIGF) and soluble fms-like tyrosine kinase (sFLT-1). The aim of this study was to assess placental volume and vascularization indices using three-dimensional ultrasonography in pregnant women with pregestational diabetes, and their relationships with maternal clinical and laboratory data.

METHODS: A total of 45 pregnant women with pregestational diabetes were submitted to two assessments (at 12-16 and 20-25 weeks) measuring placental volume (PV) and placental indices:VI (vascularization index); FI (flow index) and VFI (vascularization flow index); and the uterine artery pulsatility index (PI). Measurements were compared against those of pregnant women from a control group matched for gestational age. PV, VI, FI and VFI were also found to correlate with glycated hemoglobin (HbA1c) levels, disease duration, presence of diabetic vasculopathy, Doppler of the uterine and umbilical artery, PIGF and sFLT-1 levels, gestational age at birth, and weights of newborn and placenta.

RESULTS: Placental volume of patients with pregestational diabetes was lower compared with pregnant women without clinical complications, at the gestational ages of 12 weeks and 20-25 weeks. At the 12th week, we observed a statistically significant difference in the results of IV and IVF between pregnancies with pregestational diabetes and those without clinical complications. PI of the uterine artery was significantly higher in patients with pregestational diabetes than in pregnant women without clinical complications. The assessment of diabetic patients revealed a correlation between disease duration and placental volume at the second assessment. Patients with pregestational diabetes and vasculopathy at the gestational age of 20-25 weeks had lower VI than patients without vasculopathy at the same gestational age. A negative correlation was found between VI at the first assessment and PI of the uterine artery at the second assessment. A positive correlation was observed between VI at the first assessment and PIGF at the second assessment, and also between PIGF and PV at the second assessment.

CONCLUSIONS: Lower placental volume and correlation of VI and VFI was

observed between patients with pregestational diabetes and women without clinical complications at different gestational ages. Assessment of the group of patients with pregestational diabetes revealed correlations of placental volume and indices with disease duration, PI of the uterine artery, presence of diabetic vasculopathy and PIGF. These findings suggest that the analysis of placental volume and indices can be useful in understanding the pathophysiology, and for the diagnosis and prognosis, of pregnancies in patients with pregestational diabetes.

Descriptors: Placenta; Organ Volume; Three-dimensional image; Diabetes Mellitus; Pregnancy; Doppler ultrasonography; Biological markers.

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

No início da década de 20, com a descoberta da insulina, em 1921, houve grande impacto nos índices de mortalidade dos pacientes diabéticos. Na era pré-insulínica, os poucos relatos da ocorrência de gestações referiam altas taxas de mortalidade tanto materna quanto perinatal. Com o advento da insulina, estas taxas de mortalidade materna, de 250 a 300 por mil, na década de 1940, reduziram-se para 20 por mil (CDC).¹ Atualmente, mesmo com a diminuição das taxas de mortalidade materna e perinatal por diabetes na gestação, a morbidade neonatal ainda é elevada. O ambiente metabólico anormal provocado pela hiperglicemia tem impacto significativo na gravidez e no feto.

A gravidez da mulher diabética tem elevado risco de complicações maternas e fetais. Existe aumento da prevalência de anomalias congênitas e abortamentos espontâneos nas mulheres diabéticas que engravidam com mau controle glicêmico, o que agrava esta situação (Mills *et al.*, 1988).²

Vários estudos têm relacionado o aumento de abortamento espontâneo e anomalias fetais com o mau controle glicêmico.³ Valores de hemoglobina glicada (HbA1c) acima de 8% estão relacionados ao risco de malformações fetais três a seis vezes maiores que quando abaixo de 8%.⁴ Portanto, mulheres com desejo reprodutivo portadoras de diabetes devem iniciar um aconselhamento pré-gestacional na tentativa de obter níveis normoglicêmicos na fase da pré-concepção e manutenção adequada da

glicemia durante toda a gravidez para evitar complicações que possam levar a consequências para o conceito.⁵

Outro fato que se relaciona à maior frequência de complicações perinatais é a presença de restrição de crescimento, que pode estar associada à ocorrência de vasculopatia diabética. Haeri *et al.*⁶, em 2008, publicam estudo prospectivo com 340 gestantes portadoras de diabetes tipo I com e sem vasculopatia, e fazem análise demonstrando que a presença dessa está associada ao nascimento de feto pequeno para a idade gestacional (PIG) peso < 2500 gramas (g) e restrição de crescimento fetal (RCF), percentil < 10%. Os autores observaram significativa redução no peso ao nascer nas gestantes com vasculopatias. As taxas de PIG e RCF foram significativamente maiores em gestantes com hipertensão, retinopatia e nefropatia diabéticas (Tabela 1).

Tabela 1 - Apresentação das porcentagens de gestantes com diabetes tipo I com e sem vasculopatia, e sua relação com fetos pequenos e restritos – adaptado de Haeri *et al.*, 2008

	GESTANTES SEM VASCULOPATIA	GESTANTES COM VASCULOPATIA - n = 159 (47%)			
		Hipertensão ou Retinopatia	Retinopatia proliferativa	Nefropatia	Nefropatia e Retinopatia proliferativa
IG	n= 181 (53%)	n = 79 (23,2%)	n = 16 (4,7%)	n = 40 (11,7%)	n = 24 (7 %)
(Peso < 2.500 g)	13 (7%)	7 (9%)	2 (12%)	13 (32%)	12 (50%)
RCF (< percentil10)	3 (2%)	1 (1%)	2 (12%)	2 (5%)	4 (17%)

*PIG (pequeno para a idade gestacional); RCF (restrição de crescimento fetal)
n = número de gestantes avaliadas por grupo

Esses autores observaram, também, que fetos de gestantes diabéticas com retinopatia proliferativa e/ou nefropatia apresentam maior risco de desenvolver RCF causada por desenvolvimento inadequado da placenta, ou seja, pela presença de insuficiência placentária.

O estudo de gestações que cursam com doenças maternas que possam apresentar insuficiência placentária e, conseqüentemente, restrição de crescimento fetal é, hoje, uma das situações obstétricas de maior interesse para pesquisa clínica.

Quando o feto encontra ambiente desfavorável, como na insuficiência placentária, pode ocorrer o desenvolvimento de restrição de crescimento fetal. A RCF está associada ao aumento dos riscos de mortalidade perinatal e morbidade neonatal, bem como de início tardio na idade adulta, das doenças metabólicas, como obesidade, diabetes e hipertensão.⁷

O desenvolvimento e aperfeiçoamento dos meios laboratoriais e diagnósticos vêm corroborando para que se possa fazer uma adequada avaliação e seguimento dessas gestações e com isto diminuir as taxas de complicações neonatais. A medicina materno-fetal vem ganhando importante relevância neste campo e, a cada dia, surgem novas perspectivas e novos estudos com seus respectivos achados. O avançar de novas técnicas diagnósticas facultam-nos o estudo pormenorizado do feto e seus anexos, principalmente a placenta, na qual podem ocorrer várias alterações, como a insuficiência placentária, a qual é, em muitos casos, a responsável pelo desfecho adverso de uma gravidez.

A placenta é estrutura fundamental para o desenvolvimento fetal. Tem capacidade de órgão endócrino, além de trabalhar como rins, pulmões e intestinos, remover catabólitos, nutrir e oxigenar o feto. Sua estrutura fetal está em íntimo contato com o corpo materno. Invade a decídua e promove modificações fundamentais na hemodinâmica uterina, produzindo várias substâncias, como hormônios e gonadotrofinas. Interage diretamente com o organismo materno e permite o desenvolvimento fetal. Considerada como um órgão materno-fetal, tem duas porções: uma fetal e outra materna. A porção fetal é maior, deriva do saco coriônico e é nela que se observam os vasos fetais. A porção materna é menor, origina-se do endométrio, mais especificamente da decídua basal. O seu funcionamento inicia-se por volta da 4ª semana quando as trocas anatômicas começam a ser estabelecidas.^{8, 9}

O processo de placentação inicia-se com a implantação do blastocisto no epitélio uterino, e sua diferenciação em tecidos embrionários e extraembrionários.⁹ Os passos fundamentais para o adequado desenvolvimento placentário são: a diferenciação do trofoblasto, a invasão do tecido materno pelas células trofoblásticas e o remodelamento materno a fim de atingir a circulação útero-placentária e desenvolver eficaz vascularização feto-placentária.^{10, 11} Anormalidades estruturais ou funcionais nesta fase de placentação levam à diminuição de suprimentos e ao estresse oxidativo, resultando em um espectro de complicações na gravidez.

A chave para o desenvolvimento da placenta normal é o remodelamento das artérias uterinas e formação de uma série de processos

digitiformes, as vilosidades da placenta, as quais criam uma relação estreita entre a vascularização materna e a fetal com suprimento adequado de sangue. Cada vilosidade terminal tem um revestimento epitelial de trofoblasto, o qual desempenha funções importantes e secreta grande variedade de hormônios e fatores de crescimento diretamente no sangue materno; entre eles, destacam-se os fatores angiogênicos VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) e PIGF (fator de crescimento placentário).^{12,}

13

O VEGF é o fator angiogênico mais potente, com importantes funções para o desenvolvimento e a manutenção da placenta. É encontrado em diversos tecidos, como coração, rins, cérebro, pulmões e placenta. Existem dois receptores principais para o VEGF, que são o VEGFR-1 conhecido como porção solúvel da tirosina quinase semelhante ao fms (sFLT-1) e o VEGFR-2.^{14,15} O sFLT-1 é expresso exclusivamente nas células endoteliais com grande afinidade pelos VEGF e PIGF.¹⁶

O PIGF foi descoberto, inicialmente, no tecido placentário, mas também pode ser encontrado em menores níveis no coração, pulmão, cérebro e sistema músculo-esquelético.¹⁷ Tem sua concentração gradativamente aumentada no sangue materno, com pico entre 28 e 32 semanas quando há aumento do nível de oxigênio local.^{18, 19} Além de possuir grande afinidade é altamente regulado pelo receptor sFLT-1. Sua ação vasodilatadora é particularmente notada nas artérias uterinas durante a gravidez, sugerindo que o PIGF contribui para o remodelamento vascular das artérias uterinas na fase gravídica.^{20, 21}

A diminuição do VEGF livre e do PIGF livre é observada em mulheres diagnosticadas com pré-eclâmpsia, sendo que níveis baixos de PLGF podem ser detectados mesmo antes do aparecimento de sintomas clínicos da doença.²²

A angiogênese é um processo fisiológico que envolve o crescimento de novos vasos sanguíneos a partir de vasos pré-existentes. Ela é cuidadosamente regulada por um equilíbrio entre fatores pró-angiogênicos e antiangiogênicos. O PIGF age como um vasodilatador aumentando o diâmetro das artérias existentes. Níveis séricos circulantes muito baixos deste fator angiogênico podem contribuir para a disfunção endotelial.²³

O desenvolvimento dos vasos uteroplacentários é descrito em fases, ou seja, em ondas de invasão. A invasão do miométrio pelo trofoblasto é, tradicionalmente, descrita em duas fases: a primeira (até 12 semanas) e a segunda onda precoce de 12 a 16 semanas.²⁴ Este processo tem sido descrito como progressivo e não bifásico.²⁵

A invasão trofoblástica transforma as arteríolas espiraladas em arteríolas dilatadas com baixa resistência ao fluxo sanguíneo. A invasão contínua (referida por alguns como a segunda onda de invasão trofoblástica tardia) pode ocorrer de 20 a 24 semanas de gestação. Este processo é conhecido como pseudovasculogênese.²⁶ A não ocorrência da segunda onda faz com que as artérias espiraladas permaneçam com baixo fluxo e alta resistência levando à isquemia placentária e, conseqüentemente, lesão endotelial, que pode interferir no desenvolvimento fetal.^{26,27}

Aproximadamente na 12^a semana, a placenta compreende cerca de 50 árvores vilosas em desenvolvimento, cada uma conhecida como placentoma (cotilédone). Estas árvores funcionam independentemente embora estejam fundidas. Uma artéria materna central e espiralada perfunde cada placentoma. A partir da 12^a semana até o final da gestação, essas estruturas crescem em taxas e se especializam a fim de fornecer suprimento adequado para o crescimento exponencial do feto.⁹ Ao final do primeiro trimestre, a placenta apresenta aparência granular, acinzentada e levemente ecogênica à ultrassonografia, distinguindo-se do miométrio por uma fina camada hipoecoica. O volume placentário aumenta linearmente com o comprimento cabeça-nádega (CCN), estabilizando-se por volta da trigésima semana de gestação. Seu peso ao atingir a maturidade é, em média, 488g e sua superfície vilosa varia de 11 a 14 m².²⁸

Nas avaliações dos exames de pré-natal, há vários anos, a avaliação placentária é realizada pela ultrassonografia bidimensional (2D), na qual são feitas mensurações da espessura e classificação quanto ao grau de maturidade pelos critérios de Grannum.²⁹

Com o avançar dos métodos diagnósticos, surgiu a ultrassonografia tridimensional (3D) no ano de 1987, a qual apresentava limitações, permitindo apenas a observação estática da superfície fetal. Somente em 1992 surgiram aparelhos de ultrassom capazes de reconstruir planos bidimensionais e formar imagens mais nítidas a partir da aquisição volumétrica tridimensional.^{30, 31}

As primeiras publicações científicas relatando o volume placentário por meio da ultrassonografia tridimensional foram estudos *in vitro* que comparam a US 2D com a US 3D foram feitas por Ricabona *et al.* (1995).³² Neste estudo, foram usados 30 balões de vários formatos e tamanhos (23 a 2400 ml) fixos para evitar artefatos de movimento nos quais foram feitas mensurações de volume. O volume obtido pela ultrassonografia 2D teve média de erro de 13,7 +/- 10,1%, enquanto pela ultrassonografia 3D a média de erro foi de 2,2 +/- 2,9% para objetos regulares e irregulares. Os autores demonstraram que o US 3D para a mensuração do volume de formas de superfícies irregulares foi superior a US 2D.

Segundo Riccabona *et al.* (1996)³³ a mensuração do volume placentário é o método mais acurado de avaliação da massa placentária. Devido à dificuldade de obtenção de medidas adequadas para o seu cálculo com o emprego da ultrassonografia 2D, tem sido proposta a utilização da ultrassonografia 3D, obtendo-se melhores resultados na avaliação.

Alguns anos mais tarde, iniciaram-se estudos *in vivo*, com volume placentário medido pela ultrassonografia tridimensional e alguns destes estudos associaram o uso do *power* Doppler à avaliação da vascularização placentária.³⁴

A tecnologia de ultrassonografia 3D permite, ainda, que se possa avaliar o volume placentário e correlacioná-lo com uma determinada idade gestacional e peso fetal esperado classificando em percentis 10, 50 e 90, o que nos faculta avaliar placentas de gestantes com doenças que possam vir a ter possíveis alterações em seu leito placentário.³⁵

Estudos mais recentes relatam a combinação do uso do *power Doppler* associado à ultrassonografia 3D para o estudo da arquitetura da árvore placentária que, dessa maneira, pode ser avaliada quantitativamente.³⁶⁻⁴¹

Por se tratar de um processo dinâmico e fundamental para manutenção e desenvolvimento fetal, a avaliação da placenta por ambos os métodos pode trazer importantes informações.³⁹

Recentemente aparecem publicações relacionando volume e índices placentários com doenças maternas que incorrem com insuficiência placentária.

Rizzo *et al.* (2008)⁴² publicaram estudo com 348 pacientes nulíparas entre 11 e 13 semanas e seis dias de gestação e avaliaram o volume placentário, empregando a ultrassonografia tridimensional em aparelho Voluson™ 730, GE com o método VOCAL (virtual organ computer-aided analysis) técnica multiplanar. Das pacientes estudadas, 4,5% desenvolveram pré-eclâmpsia associada com restrição de crescimento fetal (peso inferior ao percentil 10 da curva de Hadlock)⁴³ e 1,7% tiveram partos prematuros (antes de 32 semanas de gestação). Concluíram os autores que o volume placentário aumenta linearmente com o aumento do CCN ($r=0,63$; $p<,0001$) e que, nas pacientes que desenvolveram pré-eclâmpsia ou parto prematuro, o volume placentário encontrado foi significativamente menor ($p<0,003$).

Guiot *et al.* (2008)⁴⁴ analisaram 45 mulheres entre 23 e 37 semanas de gestação, sendo 30 com restrição de crescimento fetal e 15 utilizadas como controles. Esse estudo foi realizado com aparelho de ultrassom Voluson 730

Expert™, GE, EUA, pela técnica da esfera. Foram obtidas cinco amostras de cada placenta: uma esfera central, duas periféricas e duas entre a central e as periféricas. Após a varredura da placenta, os dados foram analisados pelo método VOCAL e calculados os índices vasculares: índice de vascularização (IV), índice de fluxo (IF) e índice de vascularização e fluxo (IVF). Os resultados não apontaram correlação entre os índices de vascularização e a idade gestacional. Demonstraram, também, que o IV e IVF foram significativamente menores nos casos de restrição de crescimento, quando comparados ao grupo-controle, sendo inversamente proporcionais aos índices de resistência da artéria umbilical. Dessa maneira, o IF apresentou redução mais significativa no grupo com diástole reversa, no qual a redução do fluxo sanguíneo foi mais acentuada.

Há pouco tempo, Effendi *et al.* (2014)⁴⁵ publicaram estudo prospectivo com 543 gestantes com o intuito de estimar se há correlação entre o volume placentário mensurado pela US 3D entre 11 e 13 semanas de gestação, e o peso do recém-nascido, peso da placenta em pacientes que desenvolveram pré-eclâmpsia. Foi demonstrado que o volume placentário avaliado nesta idade gestacional tem forte correlação com o peso ao nascimento ($p < 0,001$) e peso da placenta ($p < 0,001$) ajustado à idade gestacional. Observou-se, também, que o volume placentário foi menor em gestantes que tiveram fetos com restrição de crescimento e maior em gestantes com fetos grandes para a idade gestacional. Neste estudo, não houve correlação entre o volume placentário e gestantes que desenvolveram pré-eclâmpsia.

Schwartz *et al.* (2014)⁴⁶ fizeram um estudo com 548 gestantes cujo objetivo foi associar a avaliação do volume placentário entre 11 e 14 semanas com marcadores séricos (PIGF e PP13 – galectina expressa pela placenta que ajuda na implantação placentária e remodelamento arterial) para prever fetos pequenos para a idade gestacional (< P10). Do total das pacientes estudadas, 56 (9.7%) tiveram fetos PIG, sendo que estas gestantes apresentaram volume placentário mensurado por meio da ultrassonografia 3D menor em relação às que tiveram fetos adequados ($p < 0,001$). Em relação do Doppler da artéria uterina, estes autores não encontraram associação significativa, comparando os fetos PIG e os adequados ($p = 0,06$). Quanto aos fatores de crescimento, estes foram significativamente mais baixos nos fetos PIG ($p < 0,02$), mas não tiveram significância para prever fetos pequenos ($p > 0,3$).

Apesar de algumas pesquisas terem relacionado o estudo do volume e índices placentários com intercorrências na gestação, pouco se tem estudado em relação à placentação em pacientes diabéticas. Postula-se que a presença de vasculopatia e, também, a condição metabólica no início da gestação (HbA1C elevada) poderiam interferir no processo de placentação.

Rizzo *et al.* (2012)⁴⁷ publicaram estudo analisando o volume e os índices de vascularização placentária com *power* Doppler de 32 gestantes diabéticas tipo I entre 11 semanas e 13 semanas e 6 dias. Como resultados, apresentaram: nove gestações com HbA1c $\geq 7\%$ e 23 com concentrações de HbA1c $< 7\%$. Nenhuma diferença foi encontrada nos volumes placentários de gestantes diabéticas quando comparadas com valores de HbA1c. Os

índices de vascularização placentária com *power* Doppler eram significativamente mais elevados em gestantes diabéticas quando comparados com os limites da referência de gestantes normais. As gestações que apresentavam HbA1c $\geq 7\%$ exibiram índices vasculares placentários mais elevados quando comparadas com as gestantes diabéticas com melhor controle glicêmico. Estes autores observaram que, em gestantes diabéticas do tipo I, os índices de vascularização placentários estão aumentados e estas modificações são mais evidentes nas pacientes com controle glicêmico inadequado.

Recentemente, conforme trabalho de Gonzalez *et al.* (2014)⁴⁸, foi publicado estudo caso-controle com 69 pacientes com diabetes pré-gestacional e 94 controles, em que foram realizadas US 3D no primeiro trimestre em conjunto ao rastreamento para aneuploidias, medida da translucência nucal, dosagem de hemoglobina glicada, proteína do soro materno (PAPP-A) e β -HCG. As avaliações do volume e de índices placentários foram realizadas entre 11 e 13 semanas pelo método VOCAL. Foi demonstrado que os índices de vascularização foram significativamente mais baixos em relação ao grupo-controle (IV = 0,007; IF= 0,003; e IVF = 0,04). Não encontraram diferença entre o volume placentário destes grupos. Os níveis séricos do PAPP-A foram expressivamente mais baixos nas gestantes com diabetes pré-gestacional em relação ao grupo-controle ($p < 0,02$). Esses resultados deixam clara a possibilidade de haver diferença no estudo da placenta em pacientes com diabetes pré-gestacional, quando comparadas a gestantes intercorrências clínicas.

Assim, a análise da literatura sugere que o conhecimento do volume da placenta pode ser útil na determinação do diagnóstico e prognóstico das gestações de alto risco, especialmente aquelas que cursam com insuficiência placentária.^{42,47,49-51} Observa-se, também, que as anormalidades da vascularização placentária são reconhecidamente associadas ao desenvolvimento placentário anormal e a evoluções obstétricas desfavoráveis, tais como restrição de crescimento fetal, parto pré-termo, pré-eclâmpsia, hipóxia fetal e placenta prévia centro total.^{52, 53}

Em relação ao diabetes pré-gestacional, na literatura, são poucos os estudos que avaliam o volume e os índices placentários pela US 3D nesses casos. Encontramos em um estudo a referência de que valores de HbA1C maiores podem estar relacionados a valores inferiores no volume e nos índices de vascularização. Porém não encontramos estudos que correlacionam o volume e os índices placentários pela US 3D com outros marcadores clínicos da doença, fatores angiogênicos e com Doppler da artéria uterina.

Tendo em vista a importância da avaliação da placenta pela ultrassonografia, bem como os estudos que sugerem que a adequada avaliação placentária pode ser útil para o diagnóstico e prognóstico de gestações que cursam com doenças maternas⁵⁴⁻⁵⁶ e, considerando as poucas publicações na literatura referente ao tema e, em especial, ao estudo de gestantes com diabetes pré-gestacional, decidimo-nos estudar o volume e a vascularização placentária nestas pacientes e sua correlação com

dados da história clínica , hemoglobina glicada, Doppler das artérias uterina e umbilical e fatores angiogênicos.

2 Objetivos

2 OBJETIVOS

- 1) Mensurar o volume placentário, quantificar os índices placentários e o índice de pulsatilidade da artéria uterina em pacientes com diabetes pré-gestacional e comparar com gestações sem intercorrências clínicas.

- 2) Verificar se há correlação entre o volume e os índices placentários de pacientes com diabetes pré-gestacional com:
 - a) Dosagens de hemoglobina glicada, tempo de instalação do diabetes e presença de vasculopatia diabética;
 - b) Doppler da artéria uterina e Doppler da artéria umbilical;
 - c) Dosagem de fatores angiogênicos (PIGF e sFLT -1);
 - d) Idade gestacional ao nascimento, peso do recém-nascido e peso da placenta.

3 Pacientes e Métodos

3 PACIENTES E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Estudo longitudinal prospectivo com avaliação ultrassonográfica da placenta e sua relação com dados clínicos e laboratoriais.

3.2 Pacientes

Gestantes com diabetes pré-gestacional que fazem acompanhamento pré-natal no Ambulatório de Endocrinopatias e Gestação da Clínica Obstétrica do HCFMUSP.

3.2.1 Seleção das pacientes (grupo estudo)

3.2.1.1 Critérios de inclusão

Foram incluídas pacientes com:

- Gestação única;
- Diabetes pré-gestacional;
- Idade gestacional no momento da inclusão no estudo entre 12 e 16 semanas, confirmada com ultrassonografia de primeiro trimestre;

- Concordância, por escrito, com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do Protocolo de Pesquisa, aprovado pela Comissão de Ética para análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP.

3.2.1.2 Critérios de exclusão

Anormalidades anatômicas e/ou cromossômicas do produto conceptual detectadas pela ultrassonografia no momento da avaliação do caso ou na avaliação neonatal.

As pacientes que abandonaram o pré-natal ou apresentaram abortamento não foram incluídas na análise dos resultados da segunda avaliação visto que os dados não estavam disponíveis.

3.2.1.3 Gestantes sem intercorrências clínicas

Para efeito de comparação dos resultados dos índices placentários obtidos em pacientes com diabetes pré-gestacional, utilizamos como referência um grupo de gestantes (grupo-controle), cujos dados são oriundos de estudo anterior desse serviço no qual foram avaliados casos sem intercorrências clínicas maternas (de Paula *et al.*).⁴¹

3.3 Métodos

3.3.1 Coleta de dados

As gestantes com diabetes pré-gestacional que fazem pré-natal de alto risco na Clínica Obstétrica do HCFMUSP foram convidadas a participar do estudo que se iniciou após concordância por escrito com o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo A) do protocolo de pesquisa, aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP (Anexo C).

Na primeira consulta de pré-natal das gestantes com diabetes pré-gestacional, foram obtidos os seguintes dados de história clínica: intervalo de tempo entre o diagnóstico de diabetes e a gestação atual, presença de sinais de vasculopatia diabética.

Quanto às avaliações com ultrassonografia tridimensional *power* Doppler para mensuração do volume placentário e quantificação dos índices vasculares placentários, estas foram realizadas em idades gestacionais previamente estabelecidas, ou seja, primeira avaliação entre 12 e 16 semanas e a segunda avaliação entre 20 e 25 semanas. Também foi avaliado o Doppler de artérias uterinas e umbilicais nesse mesmo exame. Todos os exames foram realizados pela mesma operadora, a autora deste estudo.

Coincidentes com as avaliações ultrassonográficas foram solicitados os exames laboratoriais que fazem parte da rotina de seguimento dessas pacientes: hemoglobina glicada (HbA1c) e coleta de sangue para análise dos fatores angiogênicos (PIGF e sFLT -1).

Ao nascimento, foram observados: a adequação do peso do recém-nascido de acordo com a idade gestacional com classificação pela curva de

Alexander⁵⁷, o peso da placenta, o tipo de parto e a indicação da resolução do parto.

3.3.2 Instrumento da coleta de dados

O instrumento da coleta de dados (Anexo B) utilizado foi constituído por formulário contendo campos de interesse. Foi obtida a estimativa do peso fetal segundo a fórmula de Hadlock, utilizando os parâmetros biométricos de mensuração fetal:⁴³

- Biometria fetal;
- Avaliação do Doppler das artérias uterinas e umbilicais;
- Avaliação placentária: grau, localização, volume e índices de vascularização;
- Características maternas: idade, paridade, presença de vasculopatia diabética;
- Tempo de instalação do diabetes;
- Dosagem de hemoglobina glicada coincidente com a avaliação ultrassonográfica da placenta;
- Indicação do parto, se houve alteração da vitalidade ou não;
- Resultados pós-natais: idade gestacional e peso ao nascimento, via de parto e peso da placenta.

3.3.2.1 Aparelho utilizado

Todos os exames foram realizados no mesmo aparelho de ultrassom: Voluson 730 Expert™, General-Eletric, Áustria, da Clínica Obstétrica do HCFMUSP.

3.3.2.2 Técnica de execução dos exames ultrassonográficos

Todas as gestantes permaneceram em posição semi-sentada. Iniciou-se o exame com a ultrassonografia bidimensional, usando transdutor convexo bidimensional de 3,5 MHz do referido aparelho, para realização da biometria fetal, confirmação da idade gestacional, estimativa do peso fetal, avaliação do Doppler das artérias uterinas e umbilicais, e análise inicial da placenta quanto à sua localização e grau de maturação placentária (Grannum *et al.*, 1979).²⁹

A mensuração das artérias uterinas foi obtida por uma varredura lateral até a margem miometrial com leve rotação externa. Sua insonação foi feita no segmento mais verticalizado possível (segmento ascendente), próximo ao cruzamento com os vasos ilíacos. A artéria umbilical foi insonada próximo à placenta (+/- há 3 cm). Ambas estão demonstradas nas figuras abaixo.

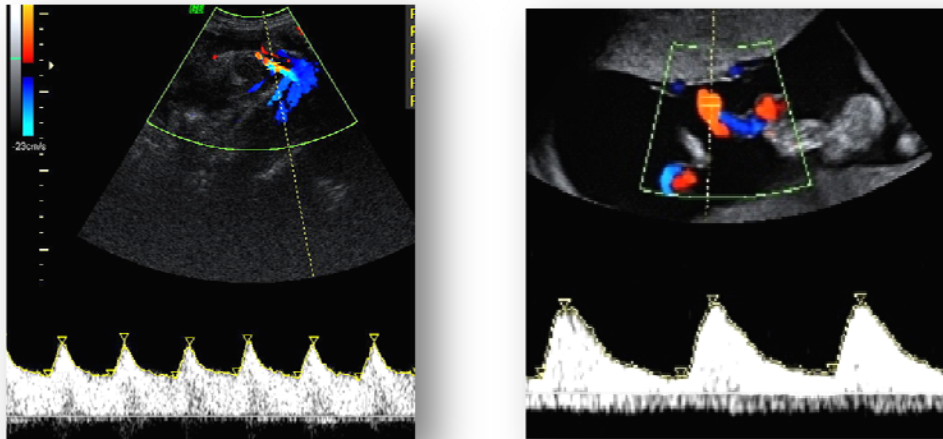


Figura 1 - Sonograma ilustrativo das artérias: uterina e umbilical

Para a avaliação tridimensional da placenta e análise dos índices de vascularização, foi realizada varredura em tempo real com transdutor convexo volumétrico de 4,0 a 8,0 MHz associado ao *power* Doppler, com velocidade baixa e ângulo de 85 graus. O aparelho foi calibrado com os mesmos ajustes preestabelecidos para todos os exames (modo angio: frequência: baixa; qualidade: 16; densidade: 6; balanço: GO150; filtro: 2; potência real: 2dB; frequência de repetição de pulso- PRF- 0,9). A duração da captura variou de 10 a 15 segundos. A avaliação volumétrica foi obtida girando a placenta sobre seu próprio eixo e analisando-a pelo método VOCAL™, que se constitui de *software* acoplado ao aparelho Voluson 730 Expert™ (GE, Áustria).

Após a varredura tridimensional, a imagem ultrassonográfica é apresentada em três diferentes planos ortogonais: um longitudinal (superior à esquerda da tela), um transversal (superior à direita da tela) e um frontal (ou coronal – inferior à esquerda da tela).

Posteriormente, seleciona-se a tecla VOCAL™ do aparelho com modo de delimitação manual e ângulo de rotação de 30 em 30 graus. Os contornos do órgão a ser estudado são demarcados com a ajuda de um calibrador de medidas. De acordo com essa técnica, elege-se o primeiro plano ortogonal como referencial, em que são ajustados os polos superiores e inferiores, e inicia-se o delineamento manual da placenta. Essa é rodada em torno de seu eixo em seis planos consecutivos, e desta etapa, o programa fornece a imagem volumétrica tridimensional, com o volume representado em cm^3 , e os índices de vascularização IV (índice de vascularização), IF (índice de fluxo) e IVF (índice de vascularização e fluxo), os quais constituem o histograma *power* Doppler tridimensional.

O volume tridimensional é formado por unidades básicas chamadas *voxels*. O *voxel* contém todas as informações sobre a escala de cinza e de cor. O *power* Doppler avalia a amplitude dos sinais recebidos, indicando o número de células em movimento, tornando-o mais sensível para avaliar pequenos vasos e baixas velocidades de fluxo, o que permite detectar mínimas alterações no fluxo sanguíneo. Esta característica é muito importante na avaliação de vasos de baixa resistência.⁵⁸

O índice de vascularização, expresso em porcentagem, representa uma relação entre o número de *voxels* coloridos e o número total de *voxels*, e indica a concentração de vasos sanguíneos naquele segmento placentário, ou seja, a porcentagem de tecido vascularizado. O índice de fluxo mostra a média do valor *color* de todos os *voxels* coloridos indicando a média da intensidade do fluxo sanguíneo, expresso em número absoluto. O IVF

representa o comportamento dos outros dois índices, demonstrando, dessa forma, a porcentagem de tecido vascularizado e com fluxo na amostra estudada.⁵²

As figuras 2 e 3 demonstram a captura da placenta em bloco tridimensional e a análise, após a captura, com a vascularização placentária, e o cálculo automático do volume placentário em cm^3 e dos índices de vascularização (histograma *power* Doppler tridimensional) pelo método VOCAL.

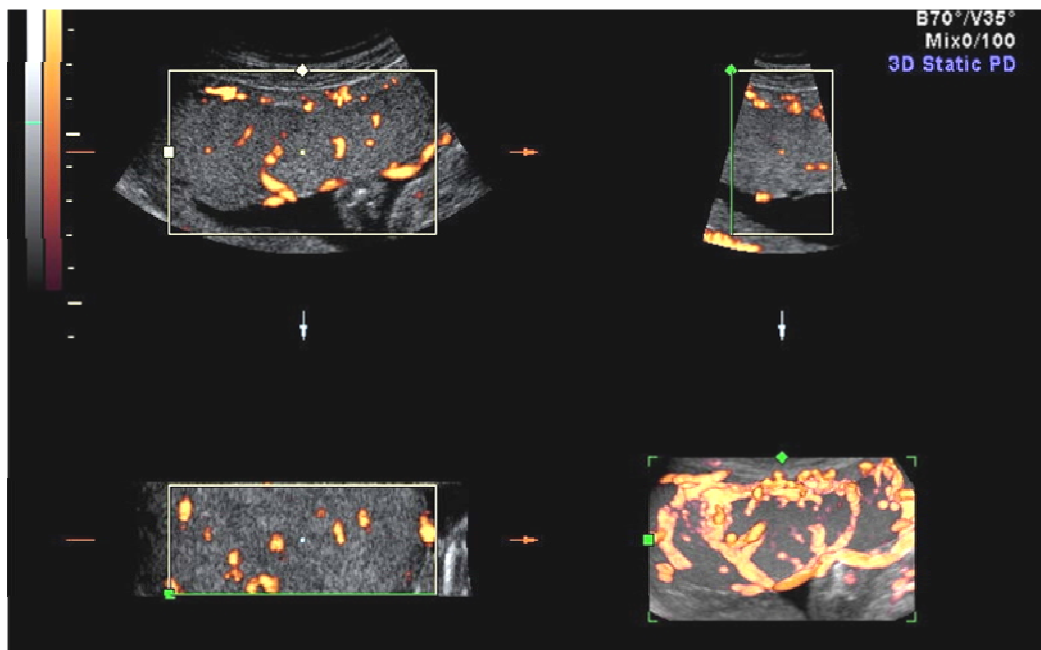


Figura 2 - Captação da placenta pela ultrassonografia 3D com *power* Doppler pelo método VOCAL

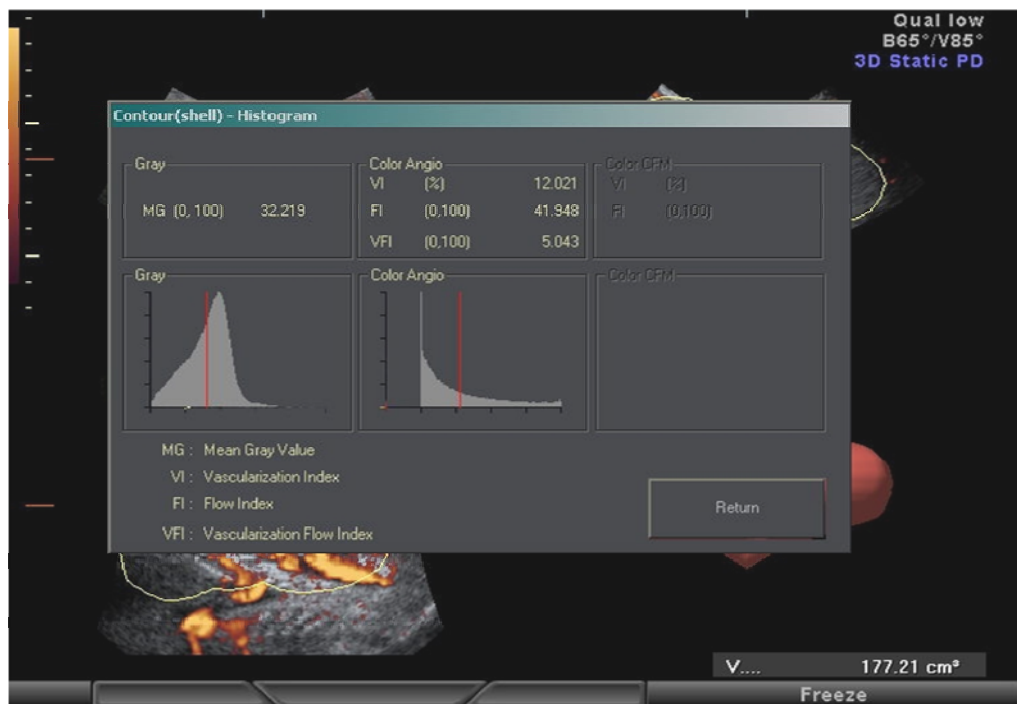


Figura 3 - Cálculo automático do volume placentário em cm^3 e dos índices de vascularização (histograma *power* Doppler tridimensional) pela ultrassonografia 3D com *power* Doppler pelo método VOCAL

3.3.3 Técnica para a dosagem de PIGF e sFLT – 1

Para a dosagem dos fatores PIGF e sFLT-1, foi coletado sangue das gestantes participantes do estudo por meio de punção venosa periférica, em tubo seco com gel separador, e prontamente encaminhado ao laboratório da Disciplina de Obstetrícia (Laboratório de Investigação Médica – LIM57) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para processamento.

No laboratório, o soro foi separado do sangue total utilizando-se centrifugação por 15 minutos a 2800 rpm, após coagulação da amostra por 30 minutos e armazenado em freezer a -80°C para posterior análise.

As análises das amostras foram realizadas em duplicata utilizando-se kit comercial disponível para testes imunoenzimáticos Quantikine® da R&D Systems Inc. (Minneapolis, MN, EUA), conforme orientação do fabricante.

Os ensaios foram realizados por equipe alheia à condição clínica de cada gestante. As reações para dosagem de PIGF e sFLT-1 foram feitas com diluição de 1:3 e 1:6, respectivamente, de maneira que os resultados das medições estivessem dentro da faixa mensurável das curvas-padrão do kit. O limite mínimo de detecção das amostras é de: 7pg/mL para PIGF e 3,5 pg/mL para sFLT-1.

Os anticorpos monoclonais específicos para PIGF e sFLT-1 revestem uma placa com 96 poços. Amostras séricas das pacientes em estudo foram pipetadas nos poços de análise e a substância em investigação (PIGF ou sFLT-1) ligou-se ao seu anticorpo específico. Após lavagem da placa, retiraram-se as substâncias não ligadas e um anticorpo policlonal específico para a molécula em questão foi adicionado aos poços de análise. Seguiu-se nova lavagem para remover substâncias não ligadas aos anticorpos e novo substrato reagente foi adicionado aos poços para leitura, de maneira a colori-los com intensidade proporcional à quantidade de moléculas presentes na amostra. A intensidade da cor foi medida por espectrofotometria (comprimento de onda de 450 nm), que determina a quantidade de PIGF e sFLT-1 presentes na amostra.

Para cada ensaio, uma curva-padrão com concentrações conhecidas dos reagentes foi construída, e a medida de PIGF e sFLT-1 foi calculada

com base na regressão polinomial obtida a partir da curva-padrão ($r^2 \geq 0,99$).

3.4 Análise estatística

3.4.1 Cálculo amostral

Para o cálculo amostral das pacientes com diabetes pré-gestacional, considerou-se um erro médio de $11,5\text{cm}^3$ e desvio-padrão de $62,7\text{ cm}^3$ calculado em avaliação de estudo-piloto que incluiu as dez primeiras avaliações do volume placentário deste estudo. Considerando-se intervalo de confiança de 95%, calculou-se que seriam necessárias 80 avaliações de ultrassonografia para permitir a comparação com o grupo de pacientes sem intercorrências clínicas. Considerando-se que cada gestante realizaria duas avaliações, estimou-se um tamanho amostral de quarenta pacientes.

3.4.2 Comparação entre os grupos e estudo das correlações

Para a caracterização da população do estudo (gestantes com diabetes pré-gestacional), as variáveis quantitativas foram expressas em valores mínimos e máximos, média, mediana e desvio-padrão segundo a idade gestacional.

As pacientes do grupo de estudo e as gestantes do grupo-controle foram agrupadas segundo as idades gestacionais, respeitando-se as ondas de invasão trofoblástica (1ª onda – até 12 semanas, 2ª onda precoce – de 13

a 16 semanas e a 2ª onda tardia – de 20 a 25 semanas). Foi realizada uma comparação entre as medianas por idade gestacional do grupo das gestantes com diabetes pré-gestacional e o grupo-controle (de Paula *et al.*)^{35,41} em relação ao VP, IV, IF, IVF e IP (considerado o IP médio das artérias uterinas, direita e esquerda) usando o teste não paramétrico de *Wilcoxon one-sample*.

Para estudo da correlação entre os índices placentários entre si e com as dosagens de hemoglobina glicada, tempo de instalação do diabetes, Doppler da artéria uterina, Doppler da artéria umbilical, dosagem de fatores angiogênicos (PIGF e sFLT -1), idade gestacional ao nascimento, peso do recém-nascido e peso da placenta, utilizou-se correlação parcial controlada por idade gestacional. Para análise da relação entre a presença de vasculopatia e o volume e índices placentários, as pacientes foram divididas em grupos segundo a idade gestacional.

O nível de significância utilizado para os testes foi de 5%.

Os *softwares* utilizados para a avaliação estatística foram o SPSS 20.0 (*Statistical Package for Social Sciences for Windows* versão 20.0) e Microsoft Excel 2007.

3.5 Características da população estudada (grupo de pacientes com diabetes pré-gestacional)

A avaliação do volume e de índices placentários foi realizada em 45 gestantes na primeira avaliação e em 37 gestantes na segunda avaliação devido a oito pacientes terem sido excluídas da 2ª avaliação. As razões para exclusão estão relacionadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Distribuição das gestantes segundo a exclusão das pacientes na 2ª avaliação – HCFMUSP – 2013

EXCLUSÃO DA 2ª AVALIAÇÃO	n (%)
Abortamento tardio	4 (8,8)
Abandono pré-natal no HC-FMUSP	4 (8,8)
Total	8 (17,6)

n = número de gestantes e (%) = porcentagem

Em relação às pacientes que abortaram, estas apresentaram óbito fetal com 12 semanas e seis dias, com 13 semanas e com 14 semanas, evoluindo para abortamento e curetagem uterina. Uma paciente, por contato telefônico, referiu ter abortado, porém não soube informar com precisão a idade gestacional.

As pacientes foram analisadas quanto à idade, à paridade, ao tempo de doença, à presença de vasculopatia diabética, a valores de HbA1c e à dosagem de fatores angiogênicos coletados conjuntamente com avaliações ultrassonográficas da placenta, Doppler das artérias uterina e umbilical, indicações e via de parto e resultados perinatais.

A idade materna variou de 16 a 38 anos com média de 26,33 (\pm 5,51) anos.

Na análise do tempo de instalação da doença, houve uma variação de três a 28 anos, com média de 13,14 (\pm 7,43) anos.

Quanto à HbA1c, os valores encontrados estão discriminados abaixo (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores de hemoglobina glicada nas avaliações de 12 a 16 semanas e de 20 a 25 semanas das pacientes com diabetes pré-gestacional – HCFMUSP – 2013

VALORES DE HbA1c					
Variáveis	Mínimo	Média	Máximo	HbA1c < 7%	HbA1c > 7 %
HbA1c 1ª avaliação	5,8	8,2	15,1	13/45 (28,88 %)	32/45 (71,11%)
HbA1c 2ª avaliação	5,2	6,4	10,6	27/37 (72,90 %)	10/37 (27,0%)

HbA1c – hemoglobina glicada

Considerando a vasculopatia diabética, 23 gestantes (51,12%) apresentaram esta alteração e 22 (48,88%) não demonstraram sinais de vasculopatia. A placenta foi avaliada quanto a sua localização na primeira e segunda avaliação ultrassonográfica, como está demonstrado na Tabela 4. Na segunda avaliação as placentas foram analisadas segundo a Classificação de Grannum. Nesta avaliação, apenas uma placenta apresentou grau I de maturação e as demais, grau 0 (Grannum *et al.*, 1979).²⁹

Tabela 4 – Localização ultrassonográfica da placenta - HCFMUSP – 2013

LOCALIZAÇÃO DA PLACENTA		
	1ª avaliação	2ª avaliação
Anterior	27 (60, 0%)	18 (48,68%)
Posterior	15 (33,34%)	11 (29,72%)
Fúndica	3 (6,66%)	3 (8,10%)
Lateral esquerda	-	3 (8,10%)
Lateral direita	-	2(5,40%)

A distribuição das gestantes quanto ao número de gestações encontra-se discriminada na Tabela 5, sendo que a maioria das gestantes era primigestas.

Tabela 5 – Distribuição das gestantes de acordo com a paridade - HCFMUSP – 2013

PARIDADE	n (%)
Gesta I	22 (48,88%)
Gesta II	11 (24,44%)
Gesta III	7 (15,56%)
Gesta IV	4 (8,89%)
Gesta V	1 (2,23%)

n = número de gestantes e (%) = porcentagem

Em relação à resolução do parto, a mais frequente foi gestação a termo, sendo que, em sete casos, a indicação da resolução da gestação foi em decorrência de alteração de vitalidade fetal, essas encontram-se descritas na Tabela 6.

Tabela 6 – Resolução da gestação – HCFMUSP – 2013

RESOLUÇÃO DA GESTAÇÃO	n (%)
Termo	22 (59,2)
Alteração da vitalidade	7 (18,4)
Rotura prematura de membranas	5 (13,4)
Indicação materna	2 (5,3)
DPP	1 (3,7)

DPP = descolamento prematuro de placenta
n = número de gestantes e (%) = porcentagem

A média da idade gestacional no parto foi de 36 semanas e dois dias ($\pm 1,5$ semanas), com idade gestacional máxima ao nascimento de 39 semanas e mínima de 32 semanas e um dia. O peso médio ao nascimento foi de 3110 ($\pm 728,64$) gramas com peso máximo de 4720 gramas e peso mínimo de 1690. O peso médio da placenta foi de 467,12 ($\pm 170,80$) gramas com peso mínimo de 110 e máximo de 958 gramas. A distribuição da via de parto é apresentada na Tabela 7.

Tabela 7 – Caracterização das gestantes estudadas quanto à via de parto HCFMUSP – 2013.

VIA DE PARTO	n (%)
Parto cesárea	28 (78,38%)
Parto fórceps	4 (10,81%)
Parto normal	4 (10,81%)

n = número de gestantes e (%) = porcentagem

Quanto aos resultados neonatais, os recém-nascidos foram classificados segundo o peso ao nascimento, de acordo com a idade gestacional, como demonstrado na Tabela 8.

Tabela 8 – Classificação do recém-nascido segundo peso ao nascimento em pacientes com diabetes pré-gestacional – HCFMUSP – 2013

RESULTADO PÓS-NATAL	n (%)
PIG	6 (16,2)
AIG	20 (54,1)
GIG	11 (29,7)

PIG (pequeno para a idade gestacional); AIG (adequado para a idade gestacional); GIG (grande para a idade gestacional); n = número de gestantes avaliadas por grupo

Observa-se que, em seis casos, os recém-nascidos foram classificados como pequenos para idade gestacional e em 11, como grandes para idade gestacional.

4 Resultados

4 RESULTADOS

4.1 Volume placentário, índices vasculares e IP da artéria uterina mensurados pela ultrassonografia tridimensional com *power Doppler* e agrupados por idade gestacional em pacientes diabéticas pré-gestacionais e grupo de gestantes sem intercorrências clínicas

Para efeito de estudo comparativo entre pacientes com diabetes pré-gestacional e o grupo-controle, as gestantes estão distribuídas conforme Tabela 9.

Tabela 9 – Divisão dos grupos por idade gestacional entre as pacientes com diabetes pré-gestacional e o grupo-controle – HCFMUSP – 2013

GRUPOS			
Semanas	Diabetes	Controle	Total
12	25	16	41
13 a 16	20	31	51
20 a 25	37	68	105
Total	82	115	197

Para análise entre estes dois grupos, utilizou-se o teste não paramétrico de *Wilcoxon one-sample*, como demonstrado na Tabela 10.

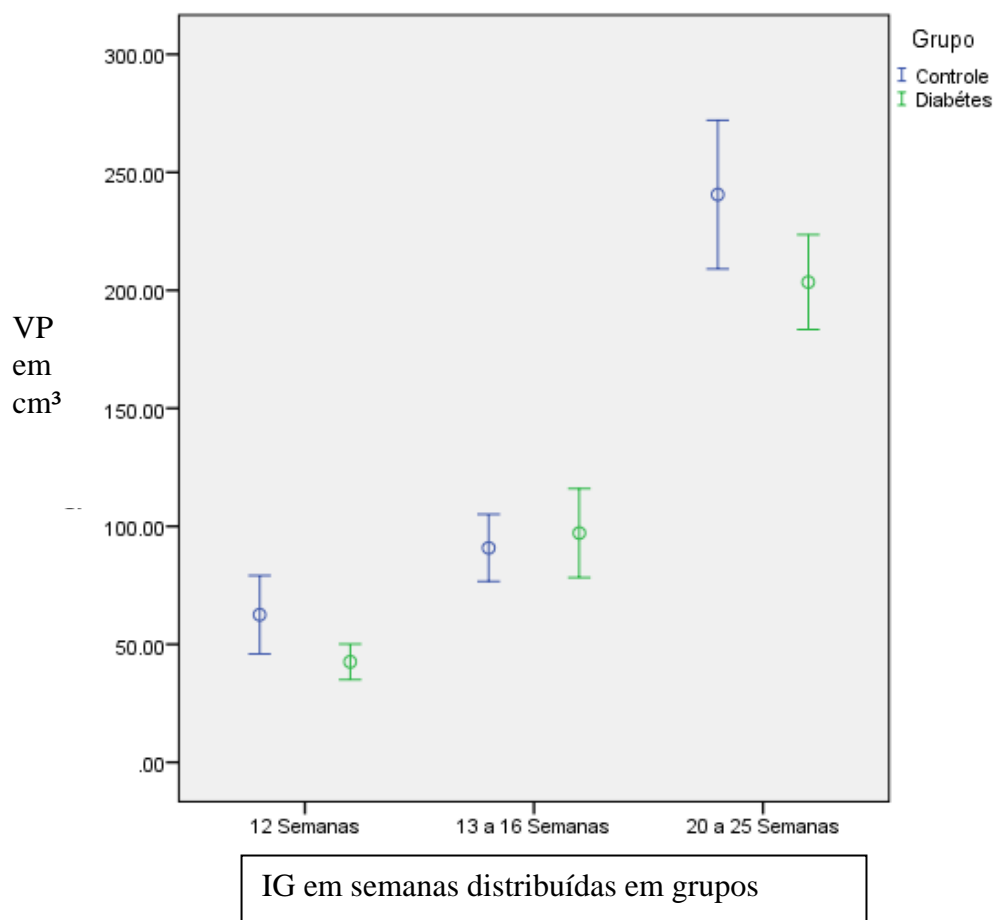
Tabela 10 – Comparação entre o grupo-controle e o grupo de pacientes com diabetes pré-gestacional de acordo com os índices placentários e os valores do Doppler da artéria uterina – HCFMUSP – 2013

Variáveis	IG sem	GRUPOS										p-Valor*
		Controle					Diabetes					
		Média	Med(a)	DP	Mín	Max	Média	Med(a)	DP	Mín	Máx	
VP	12	62,54	52,03	31,14	17,24	126,44	42,59	41,97	18,19	15,21	75,57	0,026
	13 a 16	90,86	90,09	38,74	31,60	183,52	97,16	85,62	39,13	50,50	190,70	0,748
	20 a 25	240,58	230,48	129,97	27,62	691,90	203,48	193,55	60,32	68,67	318,10	0,012
IV	12	14,14	14,11	9,69	0,11	31,40	10,89	9,87	7,36	0,29	27,22	0,026
	13 a 16	16,78	15,85	7,54	2,13	40,41	15,35	16,32	10,22	2,91	46,76	0,52
	20 a 25	16,33	17,08	8,55	2,25	43,08	18,19	16,42	12,05	0,72	59,31	0,97
IF	12	39,60	38,23	7,75	28,82	52,37	41,48	40,62	7,76	29,18	57,72	0,088
	13 a 16	43,94	44,60	7,68	30,46	58,74	45,20	45,52	6,35	32,20	55,17	0,601
	20 a 25	42,98	42,24	5,52	33,10	63,40	41,68	40,99	6,06	29,08	53,26	0,66
IVF	12	5,97	5,92	4,68	0,03	15,63	4,48	4,00	3,29	0,10	12,40	0,026
	13 a 16	7,57	7,13	3,97	0,75	19,58	6,78	6,81	4,51	1,08	19,49	0,494
	20 a 25	7,20	6,89	3,91	0,91	20,02	7,98	7,06	5,37	0,33	23,51	0,455
IP a. Uterina	12	1,64	1,52	0,58	0,86	2,86	2,48	2,28	0,92	0,99	4,49	< 0,001
	13 a 16	1,26	1,09	0,54	0,50	2,69	2,22	1,85	0,99	0,82	4,57	< 0,001
	20 a 25	0,96	0,89	0,32	0,47	2,00	1,75	1,32	0,95	0,67	4,79	< 0,001

IG - idade gestacional; Mín - Mínimo; Max - Máximo; Med(a) -Mediana ; sem- semanas; ; a.- artéria; IP – índice de pulsatilidade; VP – volume placentário; IV- índice de vascularização; IF – índice de fluxo; IVF – índice de vascularização e fluxo; *comparação de medianas: Wilcoxon one-sample

Pode-se observar que houve diferença estatisticamente significativa entre o volume placentário das pacientes com diabetes pré-gestacional e o do grupo-controle na 12^a ($p = 0,026$), e entre a 20^a e 25^a semanas ($p = 0,012$). Observa-se que, nas duas idades gestacionais, o volume placentário foi menor nas pacientes diabéticas (Gráfico 1).

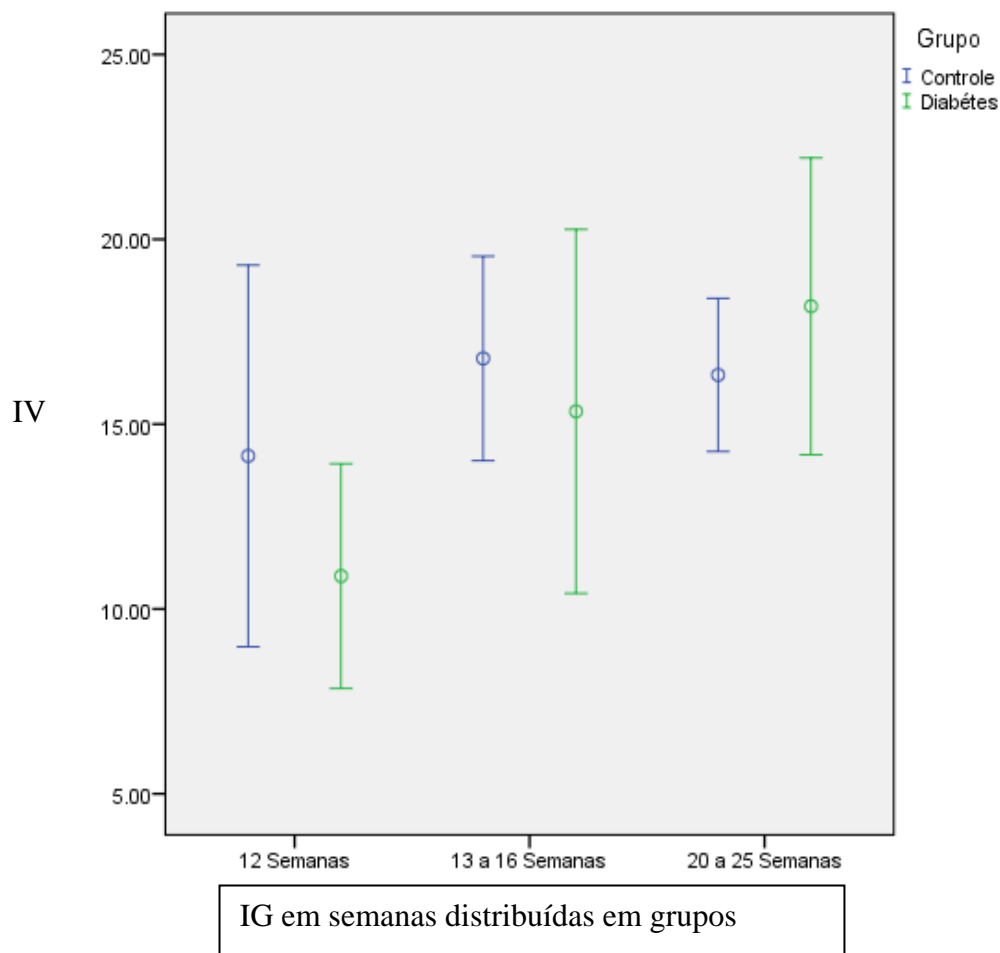
Gráfico 1 –Volume placentário (cm³) de acordo com a idade gestacional (semanas) em gestantes diabéticas pré-gestacionais e no grupo-controle pela US 3D- HCFMUSP – 2013



VP = volume placentário; IG= idade gestacional

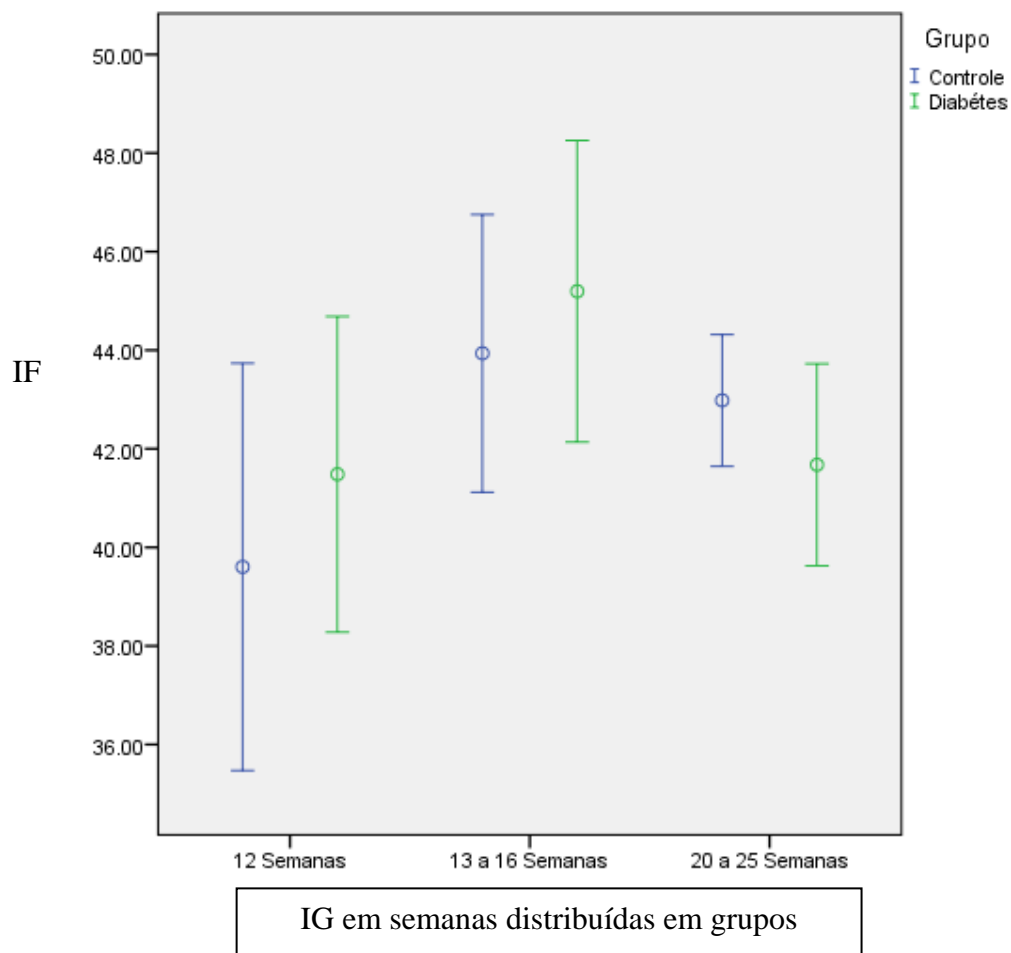
Em relação aos índices vasculares, houve diferença estatisticamente significativa quando comparadas as gestantes diabéticas pré-gestacionais com o grupo-controle na 12^a semana de gestação para o IV e o IVF ($p = 0,026$ e $p = 0,026$) (Gráficos 2 e 4, respectivamente). Não se observou diferença entre os grupos em relação ao IF (Gráfico 3).

Gráfico 2 - Gráfico do Índice de Vascularização (%) de acordo com a idade gestacional (semanas) em gestantes diabéticas pré-gestacionais e no grupo-controle pela US 3D – HCFMUSP – 2013



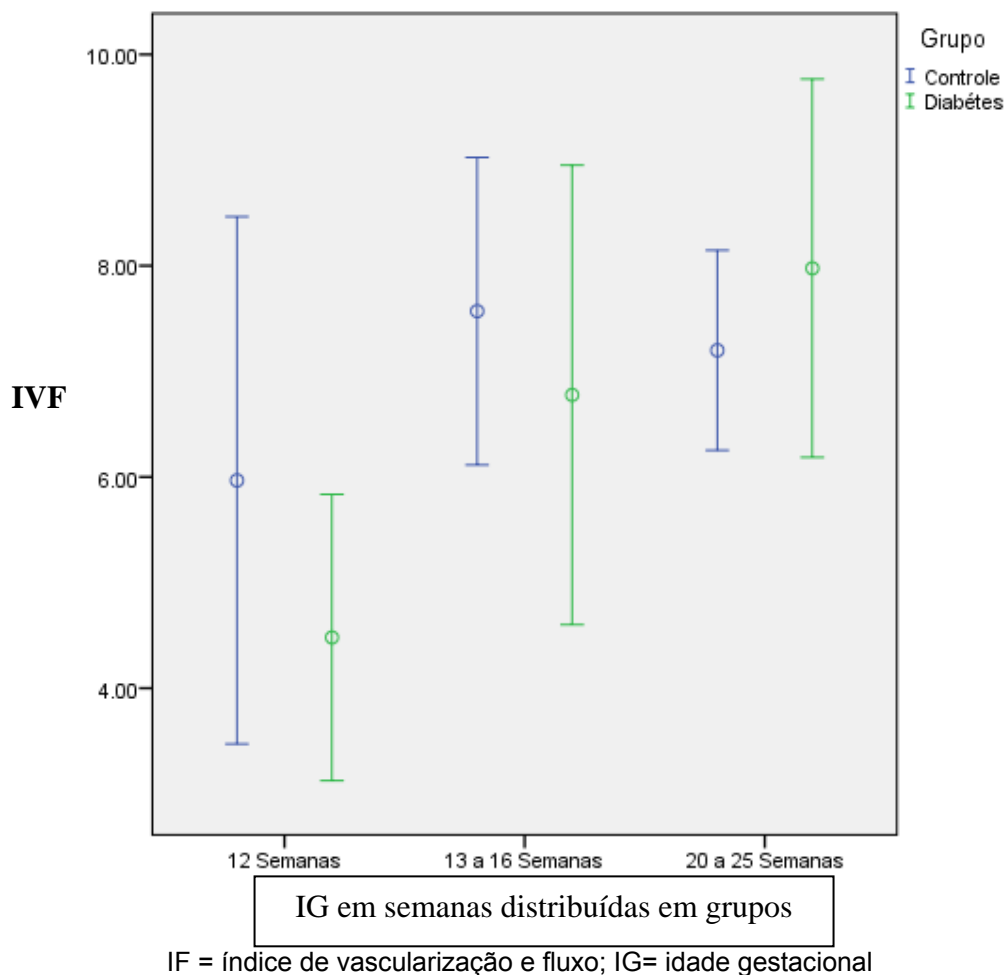
IV = índice de vascularização; IG= idade gestacional

Gráfico 3 - Índice de Fluxo (valor absoluto) de acordo com a idade gestacional (semanas) em gestantes diabéticas pré-gestacionais e no grupo-controle pela US 3D – HCFMUSP – 2013



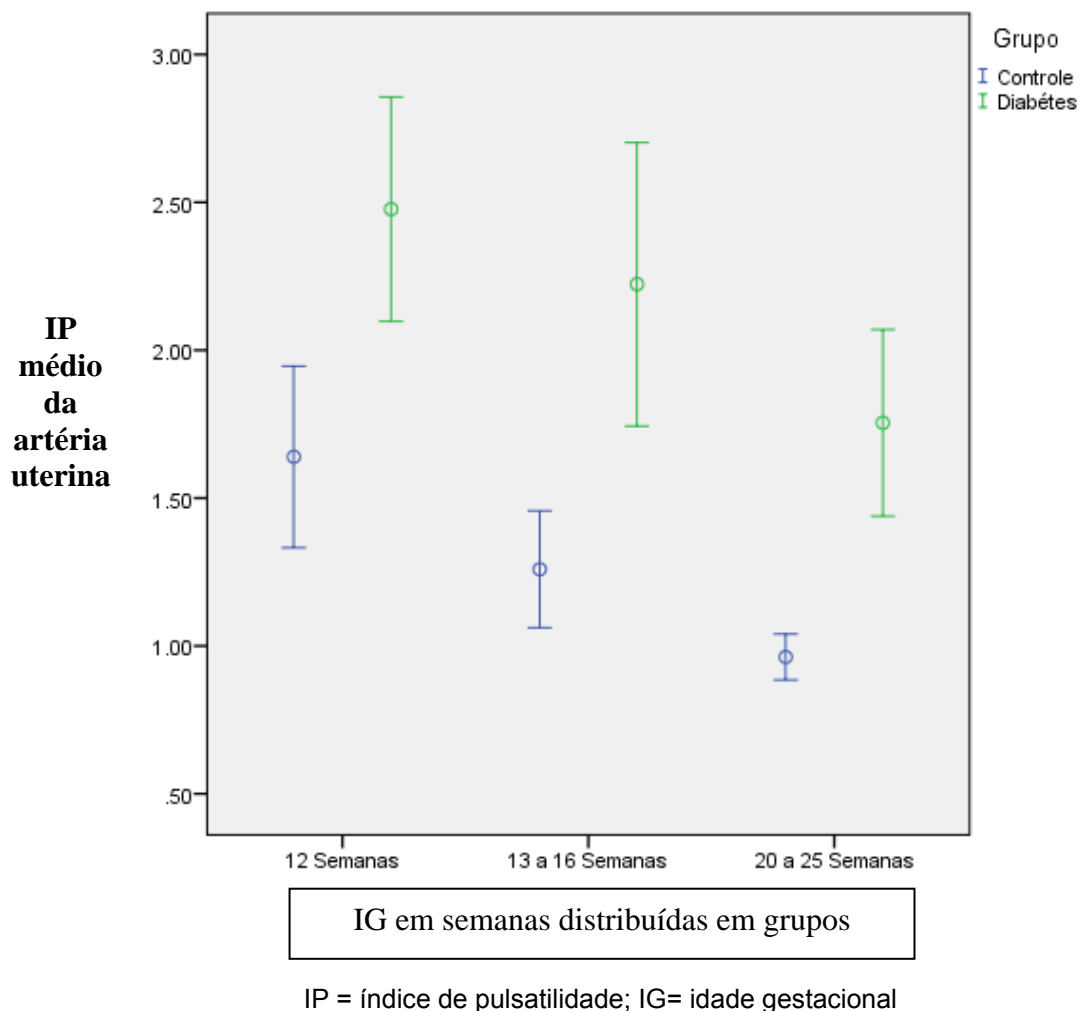
IF = índice de fluxo; IG= idade gestacional

Gráfico 4 – Índice de Vascularização e Fluxo de acordo com a idade gestacional (semanas) em gestantes diabéticas pré-gestacionais e no grupo-controle pela US 3D – HCFMUSP – 2013



No que se refere ao IP da artéria uterina, este foi significativamente mais elevado nas pacientes com diabetes pré-gestacional em relação ao grupo-controle em todas as idades gestacionais (Gráfico 5).

Gráfico 5 – Índice de pulsatilidade da artéria uterina de acordo com a idade gestacional (semanas) em gestantes diabéticas pré-gestacionais e no grupo-controle pela US 3D – HCFMUSP – 2013



4.2 Correlações entre volume placentário e índices vasculares em pacientes com diabetes pré-gestacional

O volume placentário e a quantificação dos índices vasculares pela ultrassonografia 3D, nas pacientes com diabetes pré-gestacional, foram obtidos em dois momentos, os quais denominamos de tempo 1 (12 a 16 semanas) e tempo 2 (20 a 25 semanas).

4.2.1 Correlação entre o volume placentário e índices vasculares em pacientes com diabetes pré-gestacional

Houve correlação positiva entre o VP e o IVF na primeira avaliação.

Também se observou correlação positiva entre o IV e o IVF, e entre o IF e IVF. Notou-se, porém, que o IV e o IF são partes integrantes do IVF.

Houve correlação positiva entre o VP na primeira avaliação e o IVF na segunda avaliação: o IVF da primeira avaliação correlaciona-se com o IVF da segunda avaliação, demonstrando que há crescimentos alinhados permitindo que a placenta se desenvolva.

Também se observou correlação positiva entre o IV e o IVF e entre o IF e IVF na segunda avaliação, como observado na primeira avaliação (Tabela 11).

Tabela 11 – Correlações parciais controladas pela idade gestacional entre o volume e os índices placentários em pacientes com diabetes pré-gestacional – HCFMUSP- 2013

VARIÁVEIS		VP (1)	IV (1)	IF (1)	IVF (1)	VP (2)	IV (2)	IF (2)	IVF(2)
VP (1)	<i>r</i>		0,215	0,275	0,352	0,190	0,232	0,199	0,438
	<i>p</i>		0,223	0,116	0,041	0,281	0,186	0,260	0,009
IV (1)	<i>r</i>			0,132	0,726	0,290	0,133	-0,070	0,212
	<i>p</i>			0,458	0,000	0,096	0,455	0,695	0,228
IF (1)	<i>r</i>				0,482	-0,127	0,175	0,243	0,173
	<i>p</i>				0,004	0,475	0,322	0,166	0,327
IVF (1)	<i>r</i>					0,059	0,271	0,083	0,363
	<i>p</i>					0,740	0,121	0,641	0,035
VP (2)	<i>r</i>						-0,120	0,028	-0,092
	<i>p</i>						0,497	0,873	0,605
IV (2)	<i>r</i>							0,225	0,885
	<i>p</i>							0,202	0,000
IF (2)	<i>r</i>								0,434
	<i>p</i>								0,010

VP= volume placentário; IV = índice de vascularização; IF = índice de fluxo; IVF = índice de vascularização e fluxo; *p* = nível de significância e *r* = coeficiente de correlação

4.2.2 Correlação entre o volume placentário e os índices vasculares com as dosagens de hemoglobina glicada, tempo de instalação da doença e presença de vasculopatia

Não houve correlação entre a HbAc 1, e o VP e os índices de vascularização.

Houve correlação entre o tempo de instalação da doença e o volume placentário no tempo 2 (Tabela 12).

Tabela 12 – Correlações parciais controladas pela idade gestacional entre o volume e índices os placentários em pacientes com diabetes pré-gestacional com o tempo de doença e a hemoglobina glicada (tempo 1 e 2) – HCFMUSP – 2013

VARIÁVEIS		Tempo de Doença	HbA1c (tempo 1)	HbA1c (tempo 2)
VP (1)	<i>r</i>	0.077	0.060	
	<i>p</i>	0.615	0.695	
IV (1)	<i>r</i>	-.0016	0.127	
	<i>p</i>	0.916	0.406	
IF (1)	<i>r</i>	0.108	0.057	
	<i>p</i>	0.479	0.710	
IVF (1)	<i>r</i>	0.021	0.057	
	<i>p</i>	0.891	0.710	
VP (2)	<i>r</i>	0.391		0,163
	<i>p</i>	0.017		0,335
IV (2)	<i>r</i>	0.282		0.038
	<i>p</i>	0.091		0.824
IF (2)	<i>r</i>	0.159		0.091
	<i>p</i>	0.356		0.605
IVF (2)2	<i>r</i>	0.309		0.162
	<i>p</i>	0.063		0.345

VP= volume placentário; IV = índice de vascularização; IF = índice de fluxo; IVF = índice de vascularização e fluxo; HbA1c = hemoglobina glicada; *p* = nível de significância e *r* = coeficiente de correlação

Quanto à vasculopatia diabética, foram realizadas análises de acordo com as idades gestacionais (12 semanas; 13 a 16 semanas e 20 a 25 semanas). Observou-se que o grupo das gestantes entre 20 e 25 semanas apresentou índice de vascularização menor que o grupo de pacientes sem vasculopatia, mostrando que, quando a paciente tem vasculopatia diabética, a vascularização placentária pode estar prejudicada, como pode ser visto na Tabela 13.

Tabela 13 – Comparação entre o volume e os índices placentários em pacientes com diabetes pré-gestacional nas diferentes idades gestacionais com e sem vasculopatia – HCFMUSP – 2013

	Vasculopatia	Média	Mediana	Desvio-Padrão	Min	Max	p-Valor
VP 12 sem	Não	42,55	44,61	21,11	19,17	75,57	0,936
	Sim	42,61	39,99	16,38	15,21	73,28	
IV 12 sem	Não	14,30	10,49	11,34	0,29	35,00	0,373
	Sim	8,97	8,68	4,39	1,72	15,99	
IF 12 sem	Não	41,53	40,62	7,38	30,82	53,68	0,936
	Sim	41,45	40,64	8,32	29,18	57,72	
IVF 12 sem	Não	5,22	4,00	4,77	0,10	13,80	1,000
	Sim	4,08	3,97	2,26	0,61	7,61	
VP 13 a 16	Não	90,41	80,12	36,07	50,50	190,70	0,282
	Sim	113,79	124,24	41,31	62,35	182,84	
IV 13 a 16	Não	13,09	13,24	6,30	4,56	23,28	0,416
	Sim	19,29	17,13	14,32	2,91	46,76	
IF 13 a 16	Não	45,32	45,52	7,02	32,20	55,17	1,000
	Sim	45,63	46,87	5,08	37,19	51,96	
IVF 13 a 16	Não	5,72	6,03	3,12	1,75	11,47	0,210
	Sim	8,74	8,32	5,89	1,08	19,49	
VP 20-25sem	Não	212,72	218,83	62,28	81,61	302,68	0,228
	Sim	189,08	177,26	62,50	68,67	318,12	
IV 20-25sem	Não	22,38	23,07	13,46	4,03	59,31	0,038
	Sim	14,14	13,62	8,98	0,72	33,54	
IF 20-25sem	Não	40,85	39,94	7,36	29,08	53,26	0,541
	Sim	41,85	41,26	5,21	32,22	50,96	
IVF 20-25sem	Não	9,35	9,18	5,96	2,02	23,51	0,158
	Sim	6,53	5,87	4,46	0,33	17,09	

VP= volume placentário; IV = índice de vascularização; IF = índice de fluxo; IVF = índice de vascularização e fluxo; sem = semanas; Mín = mínimo; Max = máximo e p = nível de significância

4.2.3 Correlação entre o volume placentário e índices vasculares com o Doppler das artérias uterina e umbilical

Como podemos observar, há correlação negativa entre o IV na primeira avaliação e o IP da artéria uterina, demonstrando que, quanto menor o IV maior o IP da artéria uterina na segunda avaliação (Tabela 14).

Tabela 14 – Correlações parciais controladas pela idade gestacional entre o volume e os índices placentários em pacientes com diabetes pré-gestacional com Doppler das artérias uterina e umbilical – HCFMUSP – 2013

VARIÁVEIS		VP(1)	VP(2)	IV (1)	IV (2)	IF(1)	IF (2)	IVF (1)	IVF(2)
Doppler Umbilical (1)	<i>r</i>	-0,114	-0,003	-0,074	-0,054	0,268	-0,171	0,247	-0,173
	<i>p</i>	0,519	0,987	0,679	0,762	0,125	0,333	0,159	0,329
Doppler Umbilical (2)	<i>r</i>	-0,311	-0,293	-0,284	-0,202	-0,209	-0,149	-0,283	-0,255
	<i>p</i>	0,073	0,093	0,104	0,251	0,234	0,400	0,105	0,145
IP Uterina (1)	<i>r</i>	-0,137	-0,092	-0,205	-0,071	-0,292	-0,293	-0,264	-0,166
	<i>p</i>	0,441	0,604	0,244	0,690	0,093	0,092	0,131	0,347
IP Uterina (2)	<i>r</i>	-0,316	-0,253	-0,369	-0,098	-0,121	-0,199	-0,283	-0,224
	<i>p</i>	0,069	0,149	0,032	0,583	0,495	0,258	0,105	0,202

VP= volume placentário; IV = índice de vascularização; IF = índice de fluxo; IVF = índice de vascularização e fluxo; IP = índice de pulsatilidade; *p* = nível de significância e *r* = coeficiente de correlação

4.2.4 Correlação entre o volume placentário e índices vasculares com os fatores angiogênicos (PIGF e sFLT -1)

Houve correlação positiva entre o IV na primeira avaliação, e o PIGF na segunda avaliação e entre o PIGF na segunda avaliação e o VP na segunda avaliação (Tabela 15).

O sFLT-1 não se correlacionou com o volume e os índices placentários.

Tabela 15 – Correlações parciais controladas pela idade gestacional entre o volume e os índices placentários em pacientes com diabetes pré-gestacional com os fatores angiogênicos – HCFMUSP – 2013

VARIÁVEIS		VP (1)	VP (2)	IV (1)	IV (2)	IF (1)	IF(2)	IVF(1)	IVF(2)
sFLT-1 (1)	<i>r</i>	-0,241	0,059	0,038	-0,208	-0,123	0,162	0,034	-0,144
	<i>p</i>	0,169	0,740	0,833	0,239	0,487	0,360	0,847	0,417
sFLT -1 (2)	<i>r</i>	-0,151	0,139	-0,016	0,136	-0,266	0,204	-0,107	0,170
	<i>p</i>	0,394	0,433	0,929	0,445	0,128	0,247	0,546	0,336
PIGF (1)	<i>r</i>	-0,061	0,146	0,202	-0,195	0,237	0,139	0,228	-0,113
	<i>p</i>	0,730	0,409	0,253	0,270	0,177	0,432	0,194	0,524
PIGF (2)	<i>r</i>	0,200	0,385	0,375	-0,157	-0,186	0,202	0,321	0,128
	<i>p</i>	0,257	0,025	0,029	0,375	0,292	0,252	0,064	0,470

VP= volume placentário; IV = índice de vascularização; IF = índice de fluxo; IVF = índice de vascularização e fluxo; IP = índice de pulsatilidade; PIGF = fator de crescimento placentário e sFLT-1 = porção solúvel da tirosina quinase; *p* = nível de significância e *r* = coeficiente de correlação

4.2.5 Correlação entre o volume placentário e os índices vasculares com a idade gestacional no parto, peso do recém-nascido e peso da placenta

Houve correlação entre o peso ao nascimento e o índice de fluxo na primeira avaliação (Tabela 16).

Tabela 16 – Correlações parciais controladas pela idade gestacional entre o volume e os índices placentários em pacientes com diabetes pré-gestacional com a idade gestacional no parto, o peso do recém-nascido e o peso da placenta – HCFMUSP – 2013

VARIÁVEIS		VP (1)	VP(2)	IV(1)	IV (2)	IF (1)	IF(2)	IVF(1)	IVF (2)
IG Parto	<i>r</i>	0,043	0,222	-0,225	-0,195	0,058	0,187	-0,065	-0,193
	<i>p</i>	0,809	0,206	0,201	0,270	0,746	0,290	0,713	0,275
Peso do recém-nascido	<i>r</i>	0,146	0,294	0,070	-0,283	0,441	0,039	0,223	-0,244
	<i>p</i>	0,411	0,091	0,695	0,105	0,009	0,826	0,204	0,164
Peso Placenta	<i>r</i>	0,183	0,254	0,124	-0,227	0,332	0,022	0,196	-0,180
	<i>p</i>	0,300	0,148	0,484	0,196	0,055	0,900	0,265	0,308

VP= volume placentário; IV = índice de vascularização; IF = índice de fluxo; IVF = índice de vascularização e fluxo; IP = índice de pulsatilidade; IG= idade gestacional; *p* = nível de significância e *r* = coeficiente de correlação

5 Discussão

5 DISCUSSÃO

A relevância do estudo da ultrassonografia tridimensional nos dias atuais vincula-se à popularização desta em Obstetrícia. Com crescente demanda pela utilização plena de todos os seus recursos com a finalidade de serem cada vez mais úteis para a melhoria da qualidade assistencial, todas as ferramentas diagnósticas disponíveis e adequadamente indicadas devem ser oferecidas a cada paciente. Gradativamente, é requerida de nós, profissionais da área de saúde, formação diferenciada para a execução de propedêutica cada vez mais avançada, principalmente nos grandes centros, para os quais são encaminhadas pacientes com gestações mais complexas.

A crescente demanda dos centros de referência leva ao estímulo da pesquisa e, principalmente, pauta-se na constatação de pouquíssimos estudos na população brasileira, que possui características próprias pela sua miscigenação, às vezes, não se adequando a estudos internacionais devido as nossas diferenças. A obtenção de dados que reflitam mais esta realidade é, sem dúvida, o grande estímulo ao conhecimento de novas ferramentas que possam ser úteis para a melhoria da assistência às gestantes, especificamente, neste estudo, as diabéticas pré-gestacionais.

A Clínica Obstétrica do HCFMUSP , por contar com um ambulatório especializado em endocrinopatias e gestação possui rotina preestabelecida para as diabéticas pré-gestacionais, e possui aparelhos com alta tecnologia, permitindo a realização de exames mais específicos, faculta o levantamento

e estudo destas gestantes. Corroboram a viabilidade de realização desta pesquisa, o serviço de laboratório especializado em placenta, o qual teve uma importante colaboração neste trabalho.

A existência de curva de normalidade para volume e índices placentários confeccionada neste serviço^{35, 41} também se mostrou como uma grande oportunidade para estudar em gestações associadas a doenças maternas, como seria o comportamento desses índices.

Neste contexto, estudaram-se as diabéticas pré-gestacionais divididas em avaliações com 12 semanas de gestação, entre 13 e 16 semanas e entre 20 e 25 semanas, com o intuito de avaliar a placenta em suas fases iniciais e observar, na mensuração pela ultrassonografia tridimensional com *power* Doppler se há diferenças do volume e de índices placentários, bem como do índice de pulsatilidade da artéria uterina em relação a gestantes sem intercorrências clínicas nas mesmas idades gestacionais (grupo-controle).
35, 41

A maioria dos estudos analisa o volume placentário e seus índices em pacientes com pré-eclâmpsia, como na publicação de Hafner *et al.* (2003)⁵⁰, que mede o volume placentário pela ultrassonografia 3D em pacientes de 12 e 22 semanas e avalia em três momentos semelhantes aos escolhidos no presente estudo: 12 semanas, 16 semanas e 22 semanas.

As pacientes estudadas por Hafner *et al.* (2003)⁵⁰ são divididas em quatro grupos: gestantes sem intercorrências clínicas, gestantes com pré-eclâmpsia, gestantes com fetos PIGs ao nascimento e gestantes com pré-eclâmpsia e fetos PIGs. Os autores concluem que com 12 semanas as

pacientes com fetos PIGs apresentam placentas menores e que depois se desenvolvem normalmente. Aquelas com pré-eclâmpsia apresentam volume placentário maior com 12 semanas, normal até a 16ª semana e diminuído por volta da 22ª semana. Na avaliação das pacientes cujos fetos eram PIGs e com pré-eclâmpsia, a placenta apresentou volume menor com 12 semanas e teve crescimento abaixo do esperado, quando comparada com gestantes sem intercorrências clínicas. Essa publicação estuda pacientes com idades gestacionais semelhantes às do estudo ora em discussão e compara resultados adversos com normais. Demonstra também, que a placenta apresenta volume inicial menor em gestações com desfechos adversos e evolui com variação do volume, dependendo do estresse a que a paciente está submetida; resultados estes que, consideradas as diferenças das doenças que foram estudadas, mostram-se semelhantes aos encontrados no presente estudo.

Em relação aos índices de vascularização placentária na literatura estudos avaliando estes índices pela ultrassonografia tridimensional com *power* Doppler, referindo que estes estão diminuídos em relação às gestações que evoluem sem intercorrências clínicas. Estes estudos avaliam pacientes com hipertensão arterial crônica, pré-eclâmpsia e fetos pequenos para a idade gestacional, e mostram que o IV, IF e IVF são mais baixos nestas gestações^{59, 60}, o que se assemelha parcialmente aos nossos resultados, nos quais encontramos menores valores do IV e IVF, na avaliação realizada com 12 semanas. No presente estudo não fizemos distinção entre as pacientes portadoras de diabetes pré-gestacional que

desenvolveram pré-eclâmpsia e aquelas que não tiveram pré-eclâmpsia no avançar da gestação, devido ao número reduzido de casos nessas condições, porém pode ser interessante essa análise em casuística futura.

Gonzáles *et al.* (2014)⁴⁸ publicaram estudo caso-controle avaliando gestantes com diabetes pré-gestacional para analisar o volume e os índices placentários de gestantes entre 11 e 13 semanas e não encontram diferença entre o volume placentário nesta idade gestacional. Relataram índices de vascularização placentária menores nas gestantes com pré-diabetes, independente se estas evoluem com pré-eclâmpsia. Este estudo, em relação aos índices vasculares, encontra resultados semelhantes aos nossos achados no que tange ao IV e IVF, diferindo em relação ao IF.

Rizzo *et al.* (2012)⁴⁷ relataram resultados distintos de outras publicações da literatura. Estes autores não encontraram diferença entre o IP da artéria uterina das gestantes com diabetes pré-gestacional e o grupo-controle. No presente trabalho, encontramos uma diferença estatisticamente significativa, ao comparar pacientes portadoras de diabetes pré-gestacionais e o grupo controle em relação ao IP das artérias uterinas. Outrossim um percentual de 51% das pacientes com vasculopatia diabética, o que pode justificar os altos índices de pulsatilidade observados na dopplervelocimentria das artérias uterinas.

Em seu estudo com gestantes portadoras de diabetes pré-gestacional, Rizzo *et al.*⁴⁷, também avaliaram as dosagens de hemoglobina glicada e observaram que gestações que apresentavam HbA1c $\geq 7\%$ exibiram índices vasculares placentários mais elevados quando comparadas com gestantes

diabéticas com nível de corte $< 7\%$ e correlacionaram os resultados desse exame com os índices de vascularização placentária. Em relação à proporção de pacientes com dosagens de hemoglobina glicada $< 7\%$, há discordância entre as populações estudadas por estes pesquisadores e aquelas que constituem a maior parte (71, 11%) das nossas gestantes as quais chegam ao pré-natal com níveis de HbA1c $> 7\%$ (32 gestantes), comparadas com o grupo estudado por eles, em que apenas nove pacientes (28, 12%) apresentavam HbA1c $> 7\%$ nesta fase inicial da gestação. Este fato pode justificar a ausência de correlação entre os valores de hemoglobina glicada, o volume e os índices placentários de nosso estudo.

Em relação ao tempo de instalação da doença, esta se correlacionou positivamente com o volume placentário entre 20 e 25 semanas, o que, a princípio, parece contraditório, mas por outro lado, pode-se supor que as pacientes com maior tempo de instalação da doença tenham maior frequência de vasculopatia nas quais observamos menores índices vasculares. A presença de menores índices de vascularização poderia ser fator estimulante de um maior crescimento da placenta em volume na tentativa de compensar a menor vascularização. Por outro lado se analisarmos que no trabalho já referido ⁵⁰, diferentemente dos nossos resultados, não foram encontradas diferenças entre o VP de pacientes com diabetes pré-gestacional e gestantes sem intercorrências clínicas, e que, como mostram nossos resultados, o IV se correlaciona com a vasculopatia, com isso, podemos entender que o tempo de doença terá maior importância a depender da existência ou não de outros fatores associados, e que cada

gestante precisa ser analisada separadamente para se observar se há outros expoentes que devam ser avaliados.

Estudamos o IP da artéria uterina em relação ao volume placentário e seus índices; foi notória a observação de uma correlação negativa entre o IV na primeira avaliação e o IP na segunda avaliação, mostrando que baixos índices de vascularização placentária, correlacionam-se com altos índices de pulsatilidade nas artérias uterinas, o que ainda não foi demonstrado na literatura, mas corrobora a fisiopatologia da insuficiência placentária.

Apesar de a inexistência de trabalhos na literatura, em relação à avaliação do Doppler da artéria umbilical e sua correlação com a ultrassonografia 3D, nestas fases iniciais, em pacientes com diabetes pré-gestacional, os nossos achados remetem a que, nesta fase inicial da gestação 12 a 16 semanas e 20 a 25 semanas, os índices de vascularização não têm influência na avaliação feto placentária, mas apenas na angiogênese placentária.

Ao estudar o comportamento das pacientes com vasculopatia diabética, podemos verificar que o índice de vascularização destas pacientes entre 20 e 25 semanas foi menor quando comparadas com o das pacientes sem vasculopatia. Isso indica que a vasculopatia diabética, aparentemente, não leva a alterações significativas em fase mais inicial da gestação, mas em uma segunda fase a placenta destas gestantes não alcança sua vascularização adequada como as outras.

No que se refere ao estudo dos fatores angiogênicos, encontramos, na literatura, apenas um trabalho publicado por Schwartz *et al.* (2014)⁴⁶, no qual

estuda o PIGF e o volume placentário com o intuito de identificar gestantes com alto risco de desenvolver fetos restritos, mas não faz correlação entre eles. Conclui que o PIGF e o volume placentário são menores nas pacientes com fetos pequenos para a idade gestacional.

Nesta casuística, observamos uma correlação positiva entre o PIGF na segunda avaliação com o VP também na segunda avaliação, o que ratifica, a nossa conclusão porque sabemos que o PIGF tem seu pico máximo entre a 28^a e a 32^a semana¹⁸, e a placenta também aumenta linearmente e se estabiliza por volta da 30^a semana de gestação.²⁸ Igualmente observamos uma correlação entre o IV na primeira avaliação e o PIGF na segunda avaliação. Admite-se que o crescimento da placenta e o desenvolvimento de sua vascularização, são acompanhados por aumento no PIGF o que pode ser demonstrado na segunda avaliação.

Em relação aos fatores de crescimento placentários, encontramos, na literatura, estudos mencionando-os, mas não em relação às gestantes com diabetes pré-gestacional; eles referem-se a pacientes com hipertensão arterial, pré-eclâmpsia e evoluções desfavoráveis, como fetos pequenos para a idade gestacional.⁶¹⁻⁶³

Ao se comparar estudos de mensuração do volume placentário no primeiro trimestre e sua correlação com o peso ao nascimento e o peso da placenta no trabalho Effendi *et al.*(2014)⁴⁵ citado anteriormente, estes autores encontram correlação entre o volume placentário com peso ao nascimento e o peso da placenta em gestantes com fetos pequenos para a idade gestacional e pacientes que desenvolveram pré-eclâmpsia. Em

relação à população estudada por estes autores, há uma limitação pelo número reduzido de pacientes que tiveram resultados adversos, como pré-eclâmpsia e fetos com RCF, e a nossa população estudada constitui-se apenas de gestantes com diabetes pré-gestacional.

Outra característica importante deste trabalho foi estudar correlações entre os índices de vascularização placentária e suas correlações com a idade gestacional do parto, o peso ao nascimento e o peso da placenta. Observamos correlação positiva entre o índice de fluxo na primeira avaliação e o peso ao nascimento, o que pode ser justificado pois existe relação entre a intensidade do fluxo e o peso ao nascimento, o que ainda não foi observado por outros autores.

Analisando os poucos trabalhos publicados, podemos observar que há com algumas divergências quanto aos resultados; ressalte-se que nosso estudo mostra resultados em idades gestacionais coincidentes com as ondas de invasão trofoblástica, o que pode trazer informações mais ajustadas ao que realmente acontece na placentação dessas pacientes.

A grande prerrogativa desta tese foi principiar uma avaliação da placenta pela ultrassonografia tridimensional com *power* Doppler em gestantes com diabetes pré-gestacional, o que, na literatura, ainda corresponde a uma grande lacuna, pois são pouquíssimos trabalhos encontrados no que se refere a esse tema.

A comparação do comportamento do volume e dos índices placentários de pacientes com diabetes pré-gestacional e pacientes sem intercorrências

permite demonstrar que há diferenças substanciais na placentação de pacientes portadoras dessa doença.

O estudo de correlação com marcadores clínicos e laboratoriais, incluídos aqui os marcadores angiogênicos, dá-nos a possibilidade de entender melhor os mecanismos fisiopatológicos envolvidos nesse processo. Entretanto, mais estudos ainda se fazem necessários para que estes dados possam ser úteis no diagnóstico e prognóstico dessas gestações que cursam com alterações relacionadas à angiogênese placentária.

Estes estudos com novas tecnologias estão cada vez mais incorporados à Medicina e, inegavelmente, à obstetrícia moderna. A ultrassonografia hoje é um exemplo, pois está cada vez mais incorporada na área médica, sendo que seu uso adequado e de forma realmente necessária é, atualmente, responsável pelo diagnóstico e prognóstico de várias doenças relacionadas à mãe, que podem comprometer o desenvolvimento e crescimento fetal adequado. Salientamos que os marcadores angiogênicos também têm sido grandes aliados na prática clínica.

Com este intuito, estamos cada vez mais motivados a prestar uma assistência realmente efetiva, sobretudo nas gestantes com diabetes pré-gestacional que necessitam de uma vigilância constante com a intenção de termos uma gestação que transcorra sem atropelos e com fetos hígidos.

Assim esperamos que este estudo contribua para o entendimento da placentação em pacientes com diabetes pré-gestacional, visando à construção de assistência médica cada vez mais eficaz para essas gestantes.

6 Conclusões

6 CONCLUSÕES

O presente estudo concluiu:

- 1.a) O volume placentário mensurado pela ultrassonografia 3D em pacientes com diabetes pré-gestacional foi menor quando comparado com gestantes sem intercorrências clínicas nas idades gestacionais de 12 semanas e entre 20 e 25 semanas, e sem diferença estatisticamente significativa entre 13 e 16 semanas de gestação;
 - b) Em relação aos índices de vascularização, houve diferença estatisticamente significativa na 12^a semana de gestação em relação ao IV e IVF quando comparadas gestações com diabetes pré-gestacional e sem intercorrências clínicas;
 - c) O IP da artéria uterina foi significativamente mais elevado nas pacientes com diabetes pré-gestacional em relação às gestantes sem intercorrências clínicas.
-
- 2.a) O VP e índices placentários não se correlacionaram com a hemoglobina glicada.
Houve correlação entre o tempo de doença e o volume placentário na segunda avaliação.

As pacientes com diabetes pré-gestacional com idade gestacional entre 20 e 25 semanas com vasculopatia apresentaram índice de vascularização menor em relação às pacientes sem vasculopatia nesta mesma idade gestacional;

- b) Houve correlação negativa entre o IV na primeira avaliação e o IP da artéria uterina na segunda avaliação;

O VP e índices placentários não se correlacionaram com o Doppler da artéria umbilical;

- c) Houve correlação entre o IV na primeira avaliação e o PIGF na segunda avaliação e entre o PIGF na segunda avaliação com o VP na segunda avaliação.

O VP e índices placentários não se correlacionaram com o sFLT-1;

- d) O VP e índices placentários não se correlacionaram com o peso da placenta e a idade gestacional do parto;

- e) Houve correlação entre o IF na primeira avaliação e o peso ao nascimento.

7 ANEXOS

ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE:.....
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 (.....).....

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA
PESQUISADOR EXECUTANTE: Carla Fagundes Silva de Paula
CARGO/FUNÇÃO: Médico Obstetra INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 74818
UNIDADE DO HCFMUSP: Clínica Obstétrica
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Dra. Rossana Pulcinelli Veira Francisco
CARGO/FUNÇÃO: Professora Doutora do Departamento de Obstetrícia da FMUSP
INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 75536
UNIDADE DO HCFMUSP: Clínica Obstétrica

2 - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA: SEM RISCO RISCO MÍNIMO X
RISCO BAIXO RISCO MÉDIO RISCO MAIOR
(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 04 anos

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

Estamos estudando pacientes com diabetes pré-gestacional nas quais serão avaliadas a placenta (o volume e seus vasos) pela ultrassonografia tridimensional com Doppler e com exames de sangue que serão colhidos neste mesmo dia (5 ml) . Sabemos que quando há alterações no fluxo de sangue que passa da mãe para o bebê pode haver comprometimento para o feto. Até o momento, não há estudos suficientes que analisem o tamanho da placenta e o fluxo do sangue que passa por ela utilizando-se ultrassonografia tridimensional em pacientes pré-diabéticas. Assim, você, gestante que está sendo acompanhada no ambulatório da clínica obstétrica do HCFMUSP, está sendo convidada a participar deste estudo. Caso concorde você irá realizar exames de ultrassonografia em 2 dimensões e em 3 dimensões durante o pré-natal e serão colhidos 5 ml de sangue para avaliação de fatores sanguíneos que poderão estar relacionados com alterações na placenta durante a gravidez. Este estudo terá sigilo absoluto entre médicos e pacientes, conforme o código de Ética, bem como a legislação em vigor, e os dados não serão utilizados para conduta clínica. Além disso, os nomes das pacientes serão preservados caso os dados venham a ser divulgados em revistas e eventos científicos. Todas as pacientes terão livre acesso a qualquer dado referente ao seu bebê e a sua gestação. Liberdade total será dada a todas as gestantes participantes para interromper o estudo a qualquer momento. A realização da ultrassonografia tridimensional não apresenta qualquer risco para você nem para o seu bebê. A quantidade de sangue coletada (5 ml) não interferirá com sua saúde e de seu filho. O corpo clínico e de pesquisadores estará à disposição para esclarecer quaisquer dúvidas e fornecer informações a respeito da pesquisa.

IV. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Dra. Rossana Pulcinelli Vieira Francisco: Hospital : 26616445

Dra. Carla Fagundes Silva de Paula: Hospital : 26616380

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255, ICHC, 10º andar, Obstetrícia, Cerqueira Cesar, 05403-000

V - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.
São Paulo, de de 20.....

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome Legível)

ANEXO B - Protocolo: Medidas do volume placentário e quantificação da vascularização placentária pela ultrassonografia tridimensional em gestantes diabéticas pré-gestacionais.

Dados Clínicos e Laboratoriais:

Nº	RGHC	Data
Nome		
Idade	G	P
DUM	IG (1ªUS)	IG (2ªUS)
HbA1c		
Tempo de diabetes		
Vasculopatia diabética		

Avaliação US 2D e US 3D com *power* Doppler:

1º U S	IG (CCN)	Localização da placenta	Grau	Volume placenta	IV	IF	IVF
	Doppler	AUD IP	AUE IP	A UMB			

2º U S	IG (DBP/CC/CA/F)	Peso feto	Localização da placenta	Grau	Volume placenta	IV	IF	IVF
	Doppler	AUD IP	AUE IP	AUMB				

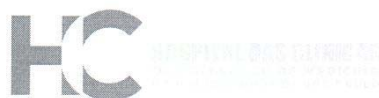
Dados do parto:

Tipo de parto e indicação

Idade gestacional do parto e índice de APGAR

Peso RN

Peso placenta

ANEXO C – Aprovação do projeto pela Comissão de Ética.**APROVAÇÃO**

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 11/08/2010, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0274/10**, intitulado: "**AValiação Ultrassonográfica Tridimensional do Volume e Índices Placentários em Gestantes com Diagnóstico de Diabetes Pré-gestacional e sua relação com dados clínicos e laboratoriais para estimativa da probabilidade de ocorrência de pré-eclâmpsia ou restrição de crescimento fetal**" apresentado pelo Departamento de **OBSTETRÍCIA E GINECOLOGIA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Rossana Pulcineli Vieira Francisco**

Pesquisador (a) Executante: **Carla Fagundes Silva de Paula**

CAPPesq, 12 de Agosto de 2010

Prof. Dr. Eduardo Massad
Presidente da Comissão de
Ética para Análise de Projetos
de Pesquisa

8 Referências

8 REFERÊNCIAS

1. CDC. Perinatal mortality and congenital malformations in infants born to women with insulin-dependent diabetes mellitus--United States, Canada, and Europe, 1940-1988. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 1990 Jun 1;39(21):363-5.
2. Mills JL, Knopp RH, Simpson JL, Jovanovic-Peterson L, Metzger BE, Holmes LB, et al. Lack of relation of increased malformation rates in infants of diabetic mothers to glycemic control during organogenesis. *N Engl J Med.* 1988 Mar 17;318(11):671-6.
3. Greene MF, Hare JW, Cloherty JP, Benacerraf BR, Soeldner JS. First-trimester hemoglobin A1 and risk for major malformation and spontaneous abortion in diabetic pregnancy. *Teratology.* 1989 Mar;39(3):225-31.
4. Ylinen K, Aula P, Stenman UH, Kesaniemi-Kuokkanen T, Teramo K. Risk of minor and major fetal malformations in diabetics with high haemoglobin A1c values in early pregnancy. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1984 Aug 11;289(6441):345-6.
5. Connell FA, Vadheim C, Emanuel I. Diabetes in pregnancy: a population-based study of incidence, referral for care, and perinatal mortality. *Am J Obstet Gynecol.* 1985 Mar 1;151(5):598-603.
6. Haeri S, Khoury J, Kovilam O, Miodovnik M. The association of intrauterine growth abnormalities in women with type 1 diabetes mellitus complicated by vasculopathy. *Am J Obstet Gynecol.* 2008 Sep;199(3):278 e1-5.

7. Schwitzgebel VM, Somm E, Klee P. Modeling intrauterine growth retardation in rodents: Impact on pancreas development and glucose homeostasis. *Mol Cell Endocrinol*. 2009 May 25;304(1-2):78-83.
8. Moore KJ. *The developing human: clinically oriented embryology*. Philadelphia; 1993.
9. Chaddha V, Viero S, Huppertz B, Kingdom J. Developmental biology of the placenta and the origins of placental insufficiency. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2004 Oct;9(5):357-69.
10. Lyall F. The human placental bed revisited. *Placenta*. 2002 Sep-Oct;23(8-9):555-62.
11. Wulff C, Weigand M, Kreienberg R, Fraser HM. Angiogenesis during primate placentation in health and disease. *Reproduction*. 2003 Nov;126(5):569-77.
12. Everett TR, Lees CC. Beyond the placental bed: placental and systemic determinants of the uterine artery Doppler waveform. *Placenta*. 2012 Nov;33(11):893-901.
13. Burton GJ, Woods AW, Jauniaux E, Kingdom JC. Rheological and physiological consequences of conversion of the maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy. *Placenta*. 2009 Jun;30(6):473-82.
14. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev*. 1997 Feb;18(1):4-25.

15. Sharkey AM, Charnock-Jones DS, Boocock CA, Brown KD, Smith SK. Expression of mRNA for vascular endothelial growth factor in human placenta. *J Reprod Fertil*. 1993 Nov;99(2):609-15.
16. Selvaraj SK, Giri RK, Perelman N, Johnson C, Malik P, Kalra VK. Mechanism of monocyte activation and expression of proinflammatory cytochemokines by placenta growth factor. *Blood*. 2003 Aug 15;102(4):1515-24.
17. Maglione D, Guerriero V, Viglietto G, Delli-Bovi P, Persico MG. Isolation of a human placenta cDNA coding for a protein related to the vascular permeability factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991 Oct 15;88(20):9267-71.
18. Noori M, Donald AE, Angelakopoulou A, Hingorani AD, Williams DJ. Prospective study of placental angiogenic factors and maternal vascular function before and after preeclampsia and gestational hypertension. *Circulation*. 2010 Aug 3;122(5):478-87.
19. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*. 2004 Feb 12;350(7):672-83.
20. Clark DE, Smith SK, He Y, Day KA, Licence DR, Corps AN, et al. A vascular endothelial growth factor antagonist is produced by the human placenta and released into the maternal circulation. *Biol Reprod*. 1998 Dec;59(6):1540-8.
21. Osol G, Celia G, Gokina N, Barron C, Chien E, Mandala M, et al. Placental growth factor is a potent vasodilator of rat and human resistance arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008 Mar;294(3):H1381-7.

22. Taylor RN, Grimwood J, Taylor RS, McMaster MT, Fisher SJ, North RA. Longitudinal serum concentrations of placental growth factor: evidence for abnormal placental angiogenesis in pathologic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Jan;188(1):177-82.
23. Charnock-Jones DS, Kaufmann P, Mayhew TM. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. I. Molecular regulation. *Placenta*. 2004 Feb-Mar;25(2-3):103-13.
24. Pijnenborg R, Bland JM, Robertson WB, Brosens I. Uteroplacental arterial changes related to interstitial trophoblast migration in early human pregnancy. *Placenta*. 1983 Oct-Dec;4(4):397-413.
25. Kaufmann P, Black S, Huppertz B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. *Biol Reprod*. 2003 Jul;69(1):1-7.
26. Lam C, Lim KH, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Hypertension*. 2005 Nov;46(5):1077-85.
27. Abramowicz JS, Sheiner E. In utero imaging of the placenta: importance for diseases of pregnancy. *Placenta*. 2007 Apr;28 Suppl A:S14-22.
28. Jauniaux E, Jurkovic D, Campbell S, Hustin J. Doppler ultrasonographic features of the developing placental circulation: Correlation with anatomic findings. *Am J Obstet Gynecol*. 1992 Feb;166(2):585-7.
29. Grannum PA, Berkowitz RL, Hobbins JC. The ultrasonic changes in the maturing placenta and their relation to fetal pulmonic maturity. *Am J Obstet Gynecol*. 1979 Apr 15;133(8):915-22.

30. Baba K, Satoh K, Sakamoto S, Okai T, Ishii S. Development of an ultrasonic system for three-dimensional reconstruction of the fetus. *J Perinat Med*. 1989;17(1):19-24.
31. Steiner H, Staudach A, Spitzer D, Schaffer H. Three-dimensional ultrasound in obstetrics and gynaecology: technique, possibilities and limitations. *Hum Reprod*. 1994 Sep;9(9):1773-8.
32. Riccabona M, Nelson TR, Pretorius DH, Davidson TE. Distance and volume measurement using three-dimensional ultrasonography. *J Ultrasound Med*. 1995 Dec;14(12):881-6.
33. Riccabona M, Nelson TR, Pretorius DH. Three-dimensional ultrasound: accuracy of distance and volume measurements. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1996 Jun;7(6):429-34.
34. Hafner E, Metzenbauer M, Stumpflen I, Waldhor T, Philipp K. First trimester placental and myometrial blood perfusion measured by 3D power Doppler in normal and unfavourable outcome pregnancies. *Placenta*. 2010 Sep;31(9):756-63.
35. de Paula CF, Ruano R, Campos JA, Zugaib M. Placental volumes measured by 3-dimensional ultrasonography in normal pregnancies from 12 to 40 weeks' gestation. *J Ultrasound Med*. 2008 Nov;27(11):1583-90.
36. Pretorius DH, Nelson TR, Baergen RN, Pai E, Cantrell C. Imaging of placental vasculature using three-dimensional ultrasound and color power Doppler: a preliminary study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1998 Jul;12(1):45-9.

-
37. Kurjak A, Kupesic S, Kos M. Three-dimensional sonography for assessment of morphology and vascularization of the fetus and placenta. *J Soc Gynecol Investig.* 2002 Jul-Aug;9(4):186-202.
38. Yu CH, Chang CH, Ko HC, Chen WC, Chang FM. Assessment of placental fractional moving blood volume using quantitative three-dimensional power doppler ultrasound. *Ultrasound Med Biol.* 2003 Jan;29(1):19-23.
39. Merce LT, Barco MJ, Bau S. Reproducibility of the study of placental vascularization by three-dimensional power Doppler. *J Perinat Med.* 2004;32(3):228-33.
40. Merce LT, Barco MJ, Bau S, Kupesic S, Kurjak A. Assessment of placental vascularization by three-dimensional power Doppler "vascular biopsy" in normal pregnancies. *Croat Med J.* 2005 Oct;46(5):765-71.
41. de Paula CF, Ruano R, Campos JA, Zugaib M. Quantitative analysis of placental vasculature by three-dimensional power Doppler ultrasonography in normal pregnancies from 12 to 40 weeks of gestation. *Placenta.* 2009 Feb;30(2):142-8.
42. Rizzo G, Capponi A, Cavicchioni O, Vendola M, Arduini D. First trimester uterine Doppler and three-dimensional ultrasound placental volume calculation in predicting pre-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008 Jun;138(2):147-51.
43. Hadlock FP. Sonographic estimation of fetal age and weight. *Radiol Clin North Am.* 1990 Jan;28(1):39-50.
44. Guiot C, Gaglioti P, Oberto M, Piccoli E, Rosato R, Todros T. Is three-dimensional power Doppler ultrasound useful in the assessment of placental

perfusion in normal and growth-restricted pregnancies? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008 Feb;31(2):171-6.

45. Effendi M, Demers S, Giguere Y, Forest JC, Brassard N, Girard M, et al. Association between first-trimester placental volume and birth weight. *Placenta.* 2014 Feb;35(2):99-102.

46. Schwartz N, Sammel MD, Leite R, Parry S. First-trimester placental ultrasound and maternal serum markers as predictors of small-for-gestational-age infants. *Am J Obstet Gynecol.* 2014 Mar 5.

47. Rizzo G, Capponi A, Pietrolucci ME, Aiello E, Arduini D. First trimester placental volume and three dimensional power doppler ultrasonography in type I diabetic pregnancies. *Prenat Diagn.* 2012 May;32(5):480-4.

48. Gonzalez Gonzalez NL, Gonzalez Davila E, Castro A, Padron E, Plasencia W. Effect of pregestational diabetes mellitus on first trimester placental characteristics: Three-dimensional placental volume and power Doppler indices. *Placenta.* 2014 Jan 16.

49. Hafner E, Philipp T, Schuchter K, Dillinger-Paller B, Philipp K, Bauer P. Second-trimester measurements of placental volume by three-dimensional ultrasound to predict small-for-gestational-age infants. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1998 Aug;12(2):97-102.

50. Hafner E, Metzenbauer M, Hofinger D, Munkel M, Gassner R, Schuchter K, et al. Placental growth from the first to the second trimester of pregnancy in SGA-foetuses and pre-eclamptic pregnancies compared to normal foetuses. *Placenta.* 2003 Apr;24(4):336-42.

51. Hafner E, Metzenbauer M, Hofinger D, Stonek F, Schuchter K, Waldhor T, et al. Comparison between three-dimensional placental volume at

- 12 weeks and uterine artery impedance/notching at 22 weeks in screening for pregnancy-induced hypertension, pre-eclampsia and fetal growth restriction in a low-risk population. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006 Jun;27(6):652-7.
52. Pairleitner H, Steiner H, Hasenoehrl G, Staudach A. Three-dimensional power Doppler sonography: imaging and quantifying blood flow and vascularization. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999 Aug;14(2):139-43.
53. Ruano R, Kondo MM, Bunduki V, Rodeck C, Zugaib M. Follow-up of uteroplacental vascularization after feticide in third-trimester therapeutic termination of pregnancy with complete placenta previa. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006 Apr;27(4):463-5.
54. Lyall F. Development of the utero-placental circulation: the role of carbon monoxide and nitric oxide in trophoblast invasion and spiral artery transformation. *Microsc Res Tech.* 2003 Mar 1;60(4):402-11.
55. Mayhew TM, Wijesekara J, Baker PN, Ong SS. Morphometric evidence that villous development and fetoplacental angiogenesis are compromised by intrauterine growth restriction but not by pre-eclampsia. *Placenta.* 2004 Nov;25(10):829-33.
56. Kinzler WL, Vintzileos AM. Fetal growth restriction: a modern approach. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2008 Apr;20(2):125-31.
57. Alexander GR, Himes JH, Kaufman RB, Mor J, Kogan M. A United States national reference for fetal growth. *Obstet Gynecol.* 1996 Feb;87(2):163-8.

-
58. Rubin JM, Bude RO, Carson PL, Bree RL, Adler RS. Power Doppler US: a potentially useful alternative to mean frequency-based color Doppler US. *Radiology*. 1994 Mar;190(3):853-6.
59. Rizzo G, Capponi A, Cavicchioni O, Vendola M, Arduini D. Placental vascularization measured by three-dimensional power Doppler ultrasound at 11 to 13 + 6 weeks' gestation in normal and aneuploid fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007 Sep;30(3):259-62.
60. Odibo AO, Goetzinger KR, Huster KM, Christiansen JK, Odibo L, Tuuli MG. Placental volume and vascular flow assessed by 3D power Doppler and adverse pregnancy outcomes. *Placenta*. 2011 Mar;32(3):230-4.
61. Andraweera PH, Dekker GA, Roberts CT. The vascular endothelial growth factor family in adverse pregnancy outcomes. *Hum Reprod Update*. 2012 Jul;18(4):436-57.
62. Verlohren S, Stepan H, Dechend R. Angiogenic growth factors in the diagnosis and prediction of pre-eclampsia. *Clin Sci (Lond)*. 2012 Jan;122(2):43-52.
63. Lobmaier SM, Figueras F, Mercade I, Perello M, Peguero A, Crovetto F, et al. Angiogenic factors vs Doppler surveillance in the prediction of adverse outcome among late-pregnancy small-for-gestational-age fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013 Nov 6.