

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**NÍVEIS SÉRICOS DA PROTEÍNA S100B EM GESTANTES COM
PRÉ-ECLÂMPسيا GRAVE**

Autor: Janete Vettorazzi

Orientador: Prof. Dr. José Geraldo Lopes Ramos

Tese de Doutorado

2006

DEDICATÓRIAS

Aos meus pais, pela minha formação, pelo incentivo e apoio incondicional em todos os momentos e pela sua sabedoria não escrita em diplomas.

Ao Eduardo, razão e estímulo ao crescimento e às novas descobertas a cada momento da vida. Com a certeza que o saber científico lhe trará satisfação.

AGRADECIMENTOS

Desejo expressar meus agradecimentos a todos os que, de alguma forma, contribuíram para a elaboração desta tese e, em particular:

- ◆ ao Prof. Dr. José Geraldo Lopes Ramos, pela confiança, pelo incentivo ao aperfeiçoamento; pelas oportunidades que propiciaram o meu crescimento científico e profissional ao longo dos últimos anos e pela orientação incansável e minuciosa, indispensáveis para a realização deste trabalho;
- ◆ ao Prof. Dr. Sérgio H. Martins-Costa, pela confiança, pelas oportunidades concedidas, pelo respeito e pelo incentivo ao desenvolvimento;
- ◆ ao doutorando da Faculdade de Medicina da UFRGS Thiago Ávila pela colaboração imprescindível na coleta dos dados junto à paciente e no laboratório;
- ◆ ao Prof. Dr. Diogo Souza pelo estímulo à pesquisa e pelo auxílio no desenvolvimento desta;
- ◆ ao Prof. Dr. Luis Portela (“Roska”) pelo auxílio na pesquisa;
- ◆ ao Dr. Cristiano Caetano Salazar pela amizade verdadeira, companheirismo e apoio em todos os momentos;
- ◆ à Dra. Elisa Brietzke pela amizade;
- ◆ à Dra. Adriana Schmidt pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho;
- ◆ ao Prof. Dr. Fernando Freitas pelas oportunidades e incentivo ao aperfeiçoamento;
- ◆ à Daniela Benzano, pelo desenvolvimento metodológico e revisão estatística;
- ◆ ao Prof. Dr. Paulo Naud, pelas oportunidades concedidas e pela confiança constante;
- ◆ aos colegas plantonistas do Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pelo apoio no desenvolvimento deste projeto e pela amizade;
- ◆ aos Professores do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo estímulo ao desenvolvimento;

- ◆ aos Residentes do Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pelo apoio no desenvolvimento deste projeto e pela amizade;
- ◆ à Dra.Caroline Boito pela amizade e auxílio na diagramação desta tese;
- ◆ ao corpo de enfermagem do Centro Obstétrico um especial agradecimento pelo auxílio imprescindível no desenvolvimento deste estudo;
- ◆ às pacientes pelo seu préstimo ao conhecimento.

ÍNDICE

ÍNDICE

Lista de abreviaturas utilizadas no texto	8
Lista de tabelas	10
Lista de figuras	11
1. Introdução e Revisão da Literatura	13
1.1 Hipertensão Arterial na Gestação	18
1.2 Fisiopatologia da Pré-eclâmpsia	20
1.3 Pré-eclâmpsia grave	23
1.4 Eclâmpsia	27
1.5 Proteína S100B	31
1.6 Proteína S100B e gestação	39
1.7 Proteína S-100B e os distúrbios hipertensivos específicos da gestação	44
1.8 Objetivos	48
1.9 Referências bibliográficas da revisão da literatura	50
2. Artigo original 1 em português	61
3. Artigo original 1 em inglês	76

4. Artigo original 2 em português	90
5. Artigo original 2 em inglês	102
6. Anexos do projeto	114

LISTA DE ABREVIATURAS UTILIZADAS NO TEXTO

ASLE	LES ativo
CIUR	crescimento intra-uterino restrito
CNS	<i>central nervous system</i>
CO	Centro Obstétrico
Cols.	colaboradores
DBP	<i>diastolic blood pressure</i>
DHEG	doença hipertensiva específica da gestação
DP	desvio padrão
DPP	descolamento prematuro de placenta
HAS	hipertensão arterial sistêmica
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HELLP	síndrome HELLP
ISLE	LES inativo
IUGR	<i>intrauterine growth restricted</i>
LA	Líquido amniótico
LES	lupus eritematoso sistêmico
MPE	<i>mild preeclampsia</i>
MS	Ministério da Saúde
NHBPEP	<i>National High Blood Pressure Education Program</i>
NMDA	receptor N-metil-D-aspartato
NPSLE	LES com síndrome neuropsiquiátrica
NSE	enolase neurônio específica
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	pressão arterial

PAD	pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PE	pré-eclâmpsia
PEG	pré-eclâmpsia grave
PEL	Pré-eclâmpsia leve
Pr/Cr	proteína/creatinina
RN(s)	Recém-nascido(s)
S100	proteína S100
S100B	proteína S100β
SBP	<i>systolic blood pressure</i>
SD	<i>Standart Deviation</i>
SNC	sistema nervoso central
SPE	<i>severe preeclampsia</i>
SS	Secretaria da Saúde
TxA2	tromboxane
UTIN	unidade de tratamento intensivo neonatal
vs	versus
WHO	<i>World Health Organization</i>

LISTA DE TABELAS

Introdução e revisão da literatura

Tabela 1. Critérios diagnósticos de pré-eclâmpsia grave	19
Tabela 2. Desfechos maternos e fetais em gestantes com pré-eclâmpsia leve e grave	25

Artigo original 1 (Português/Inglês)

Tabela 1. Características clínicas das pacientes e controles	68/83
--	-------

Artigo original 2 (Português/Inglês)

Tabela 1. Características epidemiológicas das pacientes e controles	96/108
---	--------

LISTA DE FIGURAS

Introdução e revisão da literatura

Figura 1. Fisiopatologia da pré-eclâmpsia	23
Figura 2. Mecanismo de ação do complexo do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA)	29
Figura 3. Interação da proteína S100 nas células do sistema nervoso central	32
Figura 4. Concentração plasmática da proteína S100B em indivíduos hígidos	34
Figura 5. Correlação entre concentração sérica da S100B e idade	35
Figura 6. Níveis séricos da proteína S100B em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico e controles	38
Figura 7. Níveis séricos de S100B (ng/mL) em pacientes com neurocisticercose, epilepsia e controles	39
Figura 8. Correlação entre a concentração da proteína S100B (µg/L) no sangue de cordão umbilical de fetos à termo e pré-termo com a idade gestacional	40
Figura 9. Níveis séricos maternos de S100B em 117 gestantes normais e 22 com Trissomia do 21	41

Figura 10. Níveis da proteína S100B no líquido amniótico em fetos com Síndrome de Down e controles (<i>Boxplot</i>)	42
Figura 11. Concentração de S100B ($\mu\text{g/L}$) na primeira urina, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 48, e 72 horas após o nascimento em RNs asfixiados	44
Figura 12. Comparação entre os níveis séricos em 4 grupos de gestantes com e sem hipertensão (<i>Scatter plot</i>)	45

Artigo original 1 (Português/Inglês)

Figura 1. Distribuição dos níveis séricos da proteína S100B em gestantes normotensas e com pré-eclâmpsia leve ou grave	69/83
--	-------

Artigo original 2 (Português/Inglês)

Figura 1. Comparação entre os níveis séricos nos 4 grupos de gestantes (<i>Scatter plot</i>)	95/107
--	--------

INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

1. Introdução e revisão da literatura

A pré-eclâmpsia (PE) pode ser considerada um dos maiores problemas de saúde no mundo, especialmente nos países em desenvolvimento, pelo aumento da morbimortalidade materna e perinatal. A prevalência dos distúrbios hipertensivos na gestação é variável entre diferentes populações e regiões e tem se mantido estável apesar dos avanços nos cuidados perinatais. Nos países desenvolvidos, a prevalência é baixa, sendo 1,5% na Suíça e 3,8% nos Estados Unidos. No Brasil, existem poucos estudos da prevalência dos distúrbios hipertensivos específicos da gestação (DHEG). Gaio e cols. (2001) relatam incidência de 7,5% de DHEG, sendo 2,3% de pré-eclâmpsia em gestantes brasileiras com idade superior a 20 anos. Em outro estudo, realizado em Porto Alegre, entre 1327 primigestas a prevalência geral dos DHEG foi de 17%. Neste estudo, 9,8% tinham PE e, entre essas, 29,4% tinham pré-eclâmpsia grave ou severa (PEG)(Gaio e cols., 2001; Stuczynski e cols., 2002; Sibai e cols., 2005; Wen e cols., 2005; Yücesoy e cols., 2005).

Ocorrem no mundo anualmente mais de 500.000 mortes maternas, sendo apenas 5% em países desenvolvidos. Nestes, os índices de morte materna estão abaixo de 10 mortes para cada 100.000 nascidos vivos, enquanto que, em países como Bolívia, Peru e Haiti, chegam a 200 óbitos maternos para cada 100.000 nascidos vivos. Na América Latina, morrem cerca de 28 mil mulheres por ano devido a complicações na gravidez, no parto ou no puerpério, sendo que a maioria desses óbitos (92%) poderia ser evitada com adequado atendimento (WHO, 2000; MS,2004; MS, 2005).

No Brasil, anualmente morrem 1.600 a 2.000 mulheres devido a complicações no ciclo gravídico puerperal. Os distúrbios hipertensivos específicos da gestação são a principal causa de morte materna, sendo declarados em 22,4% dos óbitos maternos. Segundo dados oficiais, em 2002, a razão de mortalidade materna corrigida foi de 74,5 e 56,6 óbitos maternos/100.000 nascidos vivos, respectivamente, no Brasil e no estado do Rio Grande do Sul (MS, 2004; MS, 2005; SS, 2006). No Rio Grande do Sul, a principal causa de morte materna são os DHEG e no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), a análise das causas de morte materna durante 20 anos demonstrou que estes estão presentes em 17,2% dos casos (Ramos e cols., 2003).

A maioria das pacientes com DHEG que vão ao óbito são aquelas que apresentam quadros mais severos e aquelas com eclâmpsia. No mundo, anualmente, morrem cerca de 50.000 mulheres em consequência da eclâmpsia, e estima-se que a eclâmpsia esteja presente em 10% do total de mortes maternas nos países em desenvolvimento. A doença hipertensiva da gravidez está presente em cerca de 15% dos nascimentos pré-termo, sendo responsável por aumento significativo da morbimortalidade neonatal (Duley, 1992; Roberts e cols., 2003; Aagard & Belfort, 2005; Sibai, 2005).

A PE é uma doença multissistêmica de causa desconhecida e sem biomarcadores específicos conhecidos. Inúmeros marcadores séricos como proteína C reativa, leptina, fator de crescimento placentário e outros têm sido estudados e nenhum individualmente permite a predição da PE (Martins-Costa e cols., 2006; Smets e cols., 2006). Os desfechos maternos e fetais dependem diretamente da idade gestacional de ocorrência, severidade da doença e qualidade do manejo. A

morbimortalidade fetal e materna são significativamente maiores em gestações abaixo de 33 semanas (Sibai e cols., 2005).

Podemos dizer que o diagnóstico precoce e o acompanhamento adequado dos distúrbios hipertensivos da gestação e, em especial, dos casos de maior gravidade, poderiam levar à diminuição do número de mortes maternas. Todo esforço ou estudo que possa auxiliar no diagnóstico precoce das situações mais graves, entre elas as de comprometimento neurológico, é válido no sentido de promover a redução de tais eventos. O futuro está em expandirmos o conhecimento sobre biomarcadores para predição precoce da PEG, especialmente em gestações abaixo de 33 semanas, onde a morbimortalidade fetal e materna é maior (Sibai e cols., 2005).

A proteína S100B está presente em altas concentrações no sistema nervoso central (SNC) e sua concentração em vários fluidos corporais tem sido estudada no acompanhamento e diagnóstico de várias patologias, especialmente as correlacionadas a dano cerebral. As concentrações aumentadas foram correlacionadas às doenças neurodegenerativas, tumores ou traumas cerebrais e doenças cerebrovasculares. Esta dosagem também foi estudada na medicina perinatal com aplicabilidade no monitoramento de crianças com asfixia perinatal e hemorragia intraventricular (Fagnart e cols., 1988; Michetti & Gazollo, 2002; Michetti & Gazollo, 2003). Seria a proteína S100B um possível biomarcador de gravidade na PE?

O presente trabalho apresenta uma revisão da literatura sobre distúrbios hipertensivos na gestação e sua correlação com a dosagem sérica da proteína S100B, sob a forma de dois artigos científicos que contribuem para o acúmulo de evidências nessa área de conhecimento.

O primeiro artigo, ainda não publicado, é um de estudo referente aos

níveis séricos de S100B em gestantes com pré-eclâmpsia grave e sua correlação com outros parâmetros de gravidade.

O segundo artigo, já publicado em revista de circulação internacional (Clinical Chemistry 2004; 50(2):435-8), trata-se do primeiro estudo publicado analisando a dosagem sérica da proteína S100B em gestantes com hipertensão.

Os dois estudos foram desenvolvidos no Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre conjuntamente com o Departamento de Bioquímica e Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

1.1 Hipertensão Arterial na Gestação

Segundo o Grupo de Trabalho em Hipertensão do Programa Nacional de Educação em Hipertensão Arterial do Ministério da Saúde dos Estados Unidos (NHBPEP, 2000) a pré-eclâmpsia é definida como o desenvolvimento de hipertensão e proteinúria significativa ($\geq 0,3$ g em urina de 24 h ou > 30 mg/dL ($> 1+$) em amostra de urina pelo método qualitativo) que surge pela primeira vez após a 20^a semana de gestação (exceção quando houver mola hidatidiforme). Na gestação, a hipertensão arterial é definida como a constatação de pressão arterial sistólica (PAS) maior ou igual a 140 mm Hg e/ou pressão arterial diastólica (PAD) maior ou igual a 90 mm Hg em pacientes normotensas antes da 20^a semana de gestação.

Os distúrbios hipertensivos na gestação são classificados em hipertensão crônica, pré-eclâmpsia (leve, grave e/ou eclâmpsia), hipertensão crônica com pré-eclâmpsia sobreposta e hipertensão gestacional. A pré-eclâmpsia (PE) severa ou grave é definida através da presença de várias alterações clínicas ou laboratoriais que são conseqüência do envolvimento de órgãos como fígado, cérebro e rins (Tabela 1). A eclâmpsia é definida como a ocorrência de convulsões generalizadas (tipo grande mal) que ocorrem em gestantes com PE e sem doença neurológica concomitante. A hipertensão crônica é a presença de pressão arterial aumentada antes da 20^a semana de gestação, podendo ocorrer PE sobreposta se a pressão arterial (PA) se elevar e surgir proteinúria. A hipertensão gestacional é caracterizada pelo aumento da PA e ausência de proteinúria (Ramos e cols., 1999; Cunha Filho e cols., 2000; NHBPEP, 2000; Roberts e cols., 2003; Haddad & Sibai 2005; Martins-Costa e cols., 2006).

Tabela 1. Critérios diagnósticos de pré-eclâmpsia grave*

Critério(s)	Parâmetro(s)
Pressão arterial	PAS > 160 mm Hg e/ou PAD > 105 mm Hg
Proteinúria em 24 horas	≥ 2 gramas**
Sinais de eclâmpsia iminente	Cefaléia, escotomas, Diplopia, visão turva
Eclâmpsia	Presente
Epigastralgia	Presente
Oligúria	< 400ml/24h
Alterações no número de plaquetas	< 100.000/mm ³
Disfunção hepática	Hiperbilirrubinemia, ↑ transaminases
Perda de função renal	Creatinina sérica > 1,2 mg/dL
Edema pulmonar e/ou insuficiência cardíaca	Presente(s)
Crescimento intra-uterino restrito e/ou oligoidrâmnio	Presente(s)

*Pré-eclâmpsia grave = ao menos um critério entre os descritos. Modificada de NHBPEP**, 2000; Cunningham** e cols., 2001; Sibai, 2003; Sibai, 2005; Martins-Costa e cols., 2006.

As primigestas têm um risco 5 a 10 vezes maior de desenvolver PE em relação às mulheres com gestações prévias. Cerca de 60 a 74% das pacientes que desenvolvem PE são primigestas. Entre os fatores predisponentes para o desenvolvimento de PE, destacamos: gestação

gemelar (3 a 5 vezes mais suscetível: incidência 14%), história familiar, hidropsia fetal não-imune, gestação molar (10 vezes mais suscetível), obesidade, nova paternidade (risco semelhante a primigestação), diabetes (risco 2 a 3 vezes maior), presença de trombofilias, PE em gestação anterior (reincidência de 18%), hipertensão crônica e doença renal. Outros fatores podem estar envolvidos de forma menos evidente na ocorrência de PE: idade abaixo de 20 ou acima de 35 anos, peso no início da gestação, abortos prévios, estresse, uso de método anticoncepcional de barreira, tempo de duração da atividade sexual previamente à gestação, fatores dietéticos e climáticos (Sibai e cols., 1997; Ness e cols., 1999; Ward & Lindheimer, 1999; Ramos e cols., 2000; Cunningham e cols., 2001; Stuczynski e cols., 2002; Stuczynski e cols., 2003; Sibai, 2005; Wagner, 2005; Martins-Costa e cols., 2006).

1.2 Fisiopatologia da Pré-eclâmpsia

A etiologia da PE não é completamente conhecida, e várias teorias tentam explicar a sua causa. Entre as possíveis etiologias, destacamos os fatores imunológicos (intolerância entre tecidos fetoplacentários e maternos), predisposição ou anormalidades genéticas, deficiências alimentares, variações climáticas e adaptação inadequada às mudanças cardiovasculares ou inflamatórias da gestação. Porém, nenhuma teoria é suficiente para explicá-la totalmente (Stuczynski e cols., 2003; Sibai e cols., 2005; Martins-Costa e cols., 2006).

Entre as anormalidades patológicas envolvidas, estão isquemia placentária, vasoespasmos generalizados, invasão trofoblástica inadequada dos vasos uterinos, ativação disfuncional do sistema da coagulação, dano vascular endotelial, alteração no metabolismo do óxido nítrico e dos lipídios, ativação leucocitária, alteração em várias citocinas e na resistência à insulina (Hauth & Cuuningham, 1999; Sibai, 2003; Sibai e cols., 2005; Martins-Costa e cols., 2006). Cabe salientar que, entre todas as teorias estudadas e possíveis mecanismos envolvidos, certamente as alterações placentárias têm papel preponderante (Ness & Roberts, 1996; Fischer & Roberts, 1999; Sibai, 2003; Vatten & Skjaerven, 2004; Sibai, 2005; Martins-costa e cols., 2006).

No decorrer de uma gestação normal ocorrem modificações na circulação materna e uteroplacentária, permitindo um maior aporte sangüíneo ao útero. A placenta é suprida por arteríolas que se desenvolvem pela invasão trofoblástica nos vasos uterinos, sendo criado um fluxo de baixa resistência, uma vez que ocorre a perda de camada muscular das artérias espiraladas e um aumento de 4 a 6 vezes nos diâmetros destes vasos. O aumento do fluxo sangüíneo placentário ocorre principalmente a partir do segundo trimestre da gestação. Além disso, o endotélio dos vasos neoformados produz uma quantidade significativa de prostaciclina, que tem função de vasodilatação e inibição da agregação plaquetária. A prostaciclina também se contrapõe ao efeito vasopressor da angiotensina e aos efeitos de vasoconstrição e agregação plaquetária do tromboxane (TxA₂) (Roberts & Redman, 1993; Cunningham e cols., 2001; Martins-Costa e cols., 2006).

Nas gestantes que desenvolvem hipertensão, a invasão trofoblástica se dá de maneira incompleta, mantendo-se parte da camada muscular das artérias, que leva ao aumento da resistência ao

fluxo uteroplacentário. Com a invasão trofoblástica alterada, o diâmetro dos vasos é 40 a 50% menor em relação à gestação normal, e algumas artérias espiraladas da decídua e do miométrio estão ocluídas por material fibrinóide, contribuindo para a diminuição do fluxo (Figura 1). Esse desequilíbrio do fluxo da placenta desencadeia mecanismos compensatórios placentários, com liberação de vasopressores, que por sua vez levam a mecanismos compensatórios maternos, os quais incluem alterações circulatórias e ativação endotelial. Como consequência, temos alterações vasculares, cerebrais, renais e hepáticas (Roberts & Redman, 1993; Ramos e cols, 1995; Taylor & Roberts, 1999; Fischer & Roberts, 1999; Martins-Costa e cols., 2006; Smets e cols., 2006; Figura 1) .

O vasoespasmo, o dano endotelial e a agregação plaquetária aumentados produzem hipóxia tecidual em órgãos-alvo como placenta, rins, fígado e cérebro, levando aos sinais e sintomas característicos da PE e, em especial, a disfunção multiorgânica característica da PEG. Ocorre um vasoespasmo materno generalizado, que é a característica fisiopatológica primaz da PE. No fígado, ocorrem várias alterações incluindo hemorragia periportal, lesões isquêmicas, deposição de fibrina e, ainda, necrose hepatocelular. Essas anormalidades levam a alterações laboratoriais características da disfunção hepática e da síndrome HELLP (hemólise, aumento enzimas hepáticas e plaquetopenia). A presença de síndrome HELLP leva ao aumento significativo da morbimortalidade materna e perinatal (Martins-Costa e cols., 2006, Deruelle e cols., 2006).

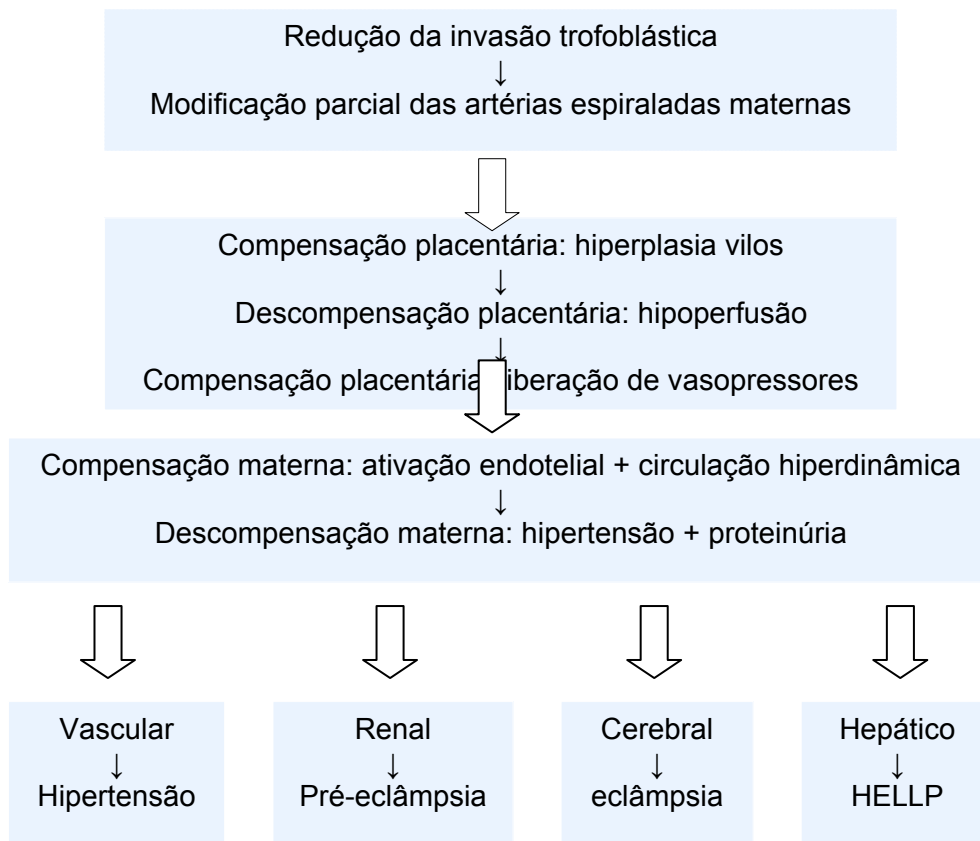


Figura 1. Fisiopatologia da pré-eclâmpsia.
(modificada de Smets e cols., 2006).

1.3 Pré-eclâmpsia grave

A pré-eclâmpsia severa ou grave está presente em até 55% do total de casos de PE, dependendo da população estudada. Na grande maioria das vezes, as mortes maternas relacionadas aos distúrbios hipertensivos ocorrem nas pacientes com PEG e, especialmente, naquelas com síndrome HELLP e/ou comprometimento neurológico (eclâmpsia, hemorragia e coma entre outros) (Yücessoy e cols., 2005, Martins-Costa e cols., 2006).

As principais complicações maternas e fetais que podem ocorrer nas pacientes com PEG são: síndrome HELLP (10-35%), convulsão (8-17%), descolamento prematuro de placenta (DPP [1,4 -22%]), coagulação intravascular disseminada (10-20%), hematoma hepático, edema agudo de pulmão, insuficiência renal aguda, morte materna, parto pré-termo (15-67%), restrição do crescimento fetal (10-56,5%), morte perinatal (1-9%), baixo peso ao nascimento e internação em unidade de tratamento intensivo neonatal (UTIN). Na Tabela 1, podemos visualizar as diferenças na prevalência das principais complicações maternas e fetais nas pacientes com PEG e pré-eclâmpsia leve (PEL) em diversos estudos realizados com diferentes populações (Hant e cols., 2002; Sibai, 2003; Yücessoy e cols., 2005; Haddad & Sibai, 2005; Thomas e cols., 2005; Sibai e cols., 2005; Deruelle e cols., 2006).

Em estudo realizado entre 5155 nascimentos na Turquia, 11,37% das pacientes apresentaram algum distúrbio hipertensivo da gestação. Entre as pacientes com PE, 54,1% apresentaram pré-eclâmpsia grave e 34,5%, pré-eclâmpsia leve. Nas pacientes com PEG, as principais complicações foram convulsão (11%), síndrome HELLP (11%), crescimento intra-uterino restrito (CIUR-29,4%) e DPP (7,5%). Neste estudo, realizado ao longo de 5 anos, ocorreram 3 casos de morte materna, sendo que a síndrome HELLP estava presente em todos, um apresentava eclâmpsia e dois, edema cerebral (Yücessoy e cols., 2005).

Tabela 2. Desfechos maternos e fetais em gestantes com pré-eclâmpsia leve e grave.

Desfechos		Hauth e cols.	Buchbinder e cols.	Hnat e cols.	Stuczynsk e cols.	Yücessoy e cols.
n	PEL	217	62	86	91	88
	PEG	109	45	70	39	138
Ano	-	1999	2002	2002	2002	2005
Idade materna [#] (anos)	PEL	-	25,4±5,3	-	21,48±5,28	27,7±6,2
	PEG		25,9±6		21,61±5,80	27,5±6,3
Parto<37 semanas (%)	PEL	-	25,8	14	-	-
	PEG		66,7	33		
Parto <35 semanas (%)	PEL	1,9	9,7	2,3	-	-
	PEG	18,5	35,6	18,6		
IG [#] (semanas)	PEL		37,8		37,97 ± 5,8	36,2±3,6
	PEG		34,8		33,87 ± 4,3*	33,7±4,3*
DPP (%)	PEL	0,5	3,2	0	-	-
	PEG	3,7	6,7	1,4		
Peso RN [#] (g)	PEL	3212	-	-	3089±685	2580±853
	PEG	2642			2107±973	1994±913 *
PIG (%)	PEL	10,2	4,8	-	-	18,9
	PEG	18,5	11,4			34,6*
Morte perinatal (%)	PEL	1	0	0	-	0,9
	PEG	1,8	8,9	1,4		2,8

PEL=pré-eclâmpsia leve; PEG=pré-eclâmpsia grave; IG=idade gestacional; PIG= fetos pequenos para IG ;RN=recém-nascido

*P < 0,001; # média ± desvio padrão.

Em outro estudo realizado com 1327 primigestas no HCPA, 130 (9,8%) gestantes apresentaram PEL e destas, 39 (29,4%) desenvolveram PEG. Nestas últimas, os desfechos perinatais desfavoráveis foram significativamente maiores quando comparados às pacientes com PEL, a saber: idade gestacional média do nascimento (33 X 38 semanas), peso do recém-nascido (RN) <1500g (33% x 2,2%), peso RN 1500-2500g (28% x 17%), índice de Apgar menor que 5 no quinto minuto (18% x 2,2%) e taxa de cesariana (72% x 51%) (Stuczynski, 2002).

Os desfechos geralmente são melhores em gestações com 36 semanas ou mais, sendo que a morbimortalidade materna e fetal aumenta substancialmente em gestações com menos de 33 semanas e com PEG (Haddad e cols., 2004; Haddad & Sibai, 2005).

A síndrome HELLP está presente em 4 a 14% das pacientes com PE e pode ser considerada em separado, tendo em vista que cerca de 25% destas pacientes poderão evoluir para morte ou morbidade severa (Wagner, 2004; 2006; Sibai e cols., 2005; Haddad & Sibai, 2005; Deruelle e cols., 2006).

Na PEG, as complicações neurológicas vão desde sintomas visuais e cefaléia até eclâmpsia, hemorragia cerebral e coma. A eclâmpsia representa apenas uma das complicações da PEG. As complicações neurológicas - especialmente as convulsões e a hemorragia cerebral - estão presentes em parcela significativa de óbitos maternos (Ramos e cols., 2003; MS, 2004; Karnad & Guntupalli, 2005; Belfort e cols., 2005; Ramos & Martins-Costa, 2006). O estudo de casos fatais em eclâmpsia demonstrou que a hemorragia cerebral foi a causa do óbito em 35% das vezes e pequenas áreas de hemorragia estão presentes em 85% dos casos onde a causa do óbito foi falência cardiorrespiratória (Hauth & Cunningham, 1999). O diagnóstico precoce

de alteração e/ou comprometimento do sistema nervoso central é de suma importância no manejo destas pacientes.

1.4 Eclâmpsia

As manifestações da PE no sistema nervoso central (SNC) podem se dar através de cefaléia, distúrbios visuais (visão borrada, escotomas, perda temporária da visão) e, ocasionalmente, sinais focais neurológicos, coma e acidente vascular cerebral hemorrágico. A eclâmpsia é definida como a presença de convulsões generalizadas em gestante com pré-eclâmpsia, e é a mais importante manifestação de comprometimento do SNC nas pacientes com DHEG. Sua fisiopatologia envolve alterações na perfusão cerebral, com áreas de isquemia, edema e hemorragia, como parte de uma enfermidade caracterizada pela disfunção multiorgânica (Barton & Sibai, 1991; Thomas, 1998; NHBPEP, 2000; Ramos & Martins-Costa, 2006).

Nos países desenvolvidos, a incidência de eclâmpsia é baixa (0,04 a 0,7% das gestantes) e está envolvida em menos que 5% das mortes maternas. Nos países subdesenvolvidos a eclâmpsia é 3 a 4 vezes mais comum, sendo responsável por cerca de um terço dos óbitos maternos. Em locais como a Índia e o Sul da África, respectivamente, a eclâmpsia é responsável por 15% e 66% de todas internações obstétricas em unidades de tratamento intensivo (Thomas, 1998; Ramos e cols., 2003; Karnad & Guntupalli, 2005; Ramos & Martins-Costa, 2006).

Nas gestantes, a eclâmpsia é a emergência neurológica mais comum e implica num aumento significativo da morbimortalidade materna. A mortalidade perinatal e materna estão diretamente relacionadas ao intervalo entre a convulsão e o nascimento, podendo chegar a 62% e 42%, respectivamente, quando o nascimento ocorreu 24 horas após a convulsão (Thomas, 1998; Dineen & Lenthall, 2005).

Não existe uma explicação clara por que algumas pacientes com PE convulsionam e outras não. Provavelmente isso ocorra nas pacientes onde o cérebro esteja mais envolvido e a extensão da isquemia e das lesões cerebrais podem influenciar na incidência da eclâmpsia. A eclâmpsia ocorre, na maioria das vezes (>40%), antes do parto, entretanto até 16% podem ocorrer após 48 horas do nascimento. As mortes associadas à eclâmpsia geralmente são consequência de eventos cerebrovasculares, renais, falência hepática ou síndrome HELLP (Thomas, 1998; Hauth e cols., 2000; Wagner, 2004; Karnad & Guntupalli, 2005).

O mecanismo exato da convulsão eclâmpica não é claro. Entre os mecanismos envolvidos estão vasoespasmo cerebral, encefalopatia hipertensiva, edema cerebral, alteração na autorregulação cerebral, micro-hemorragia cerebral e encefalopatia metabólica. O vasoespasmo cerebral tem sido descrito a partir de ressonância magnética convencional e angiografias em pacientes com PEG e eclâmpsia. O vasoespasmo cerebral é incomum em gestantes com PEL, mas graus relativos de isquemia têm sido encontrado também nestas pacientes (Thomas, 1998; Hauth & Cunningham, 1999; Ruthenford e cols., 2003; Dineen e cols., 2005; Karnad & Guntupalli, 2005; Belfort e cols., 2005).

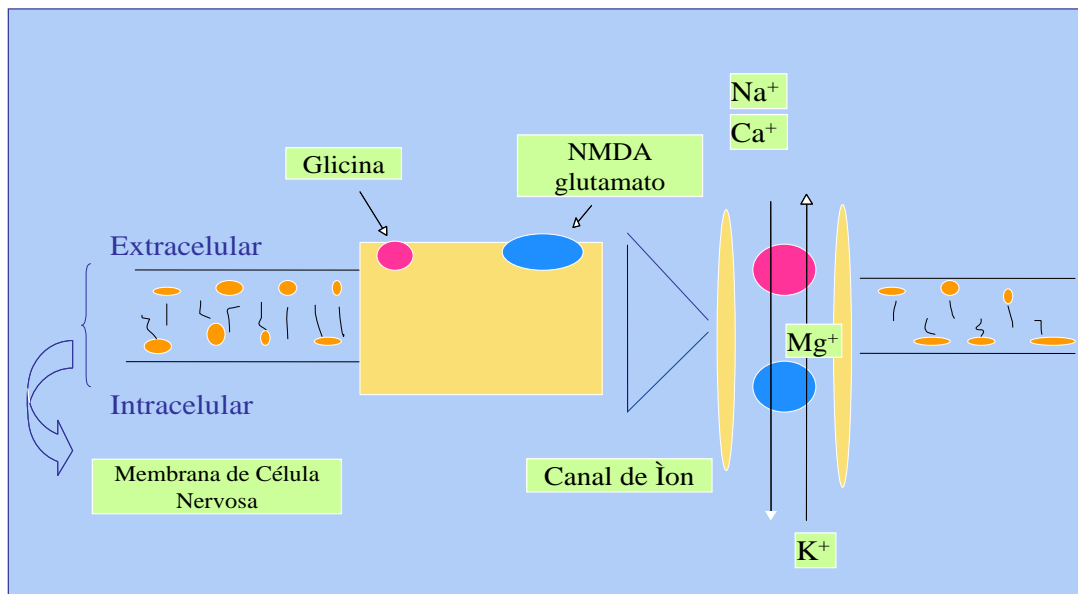


Figura 2. Mecanismo de ação do complexo do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA).
(modificada de Ramos & Martins-Costa, 2006).

Na epilepsia, a convulsão é resultado de uma descarga excessiva das células cerebrais. A fisiopatologia da convulsão eclâptica pode ter origem num foco de isquemia. Na convulsão a descarga neuronal é caracterizada por alterações iônicas com aumento do cálcio intracelular e do potássio extracelular. Na Figura 2, podemos visualizar o mecanismo de ação do complexo do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) que está envolvido nas alterações iônicas envolvendo cálcio e zinco. Achados clínicos e experimentais sugerem a participação de aminoácidos excitatórios (glutamato e aspartato), além do influxo de cálcio nas convulsões e morte neuronal associada à doença (Hauth & Cunningham, 1999; Ramos & Martins-Costa, 2006; Tanovic & Alfaro, 2006; Dominguez e cols., 2006).

Na tomografia e/ou na ressonância magnética de pacientes com eclâmpsia são descritas uma variedade de anormalidades, que, na sua maioria, são transitórias. Estas lesões consistem em edema cerebral, hemorragia cerebral e áreas de hipodensidade. Alguns estudos relatam que as áreas de hipodensidade são mais comuns na região cortical e lobo occipital. A incidência de distúrbios visuais é maior quando as lesões são predominantemente em área posterior (Millez e cols., 1990; Barton & Sibai, 1991; Hauth & Cunningham, 1999; Ruthenford e cols., 2003; Ramos & Martins-Costa, 2006).

Em aproximadamente um terço das pacientes que morrem com eclâmpsia a hemorragia do parênquima está presente, desde petéquias multifocais até grandes hematomas. As descrições patológicas realizadas 1 a 2 horas após a morte relatam graus variados de hemorragia, petéquias, dano vascular, necrose fibrinóide, isquemia e microinfartos (Dineen e cols., 2005).

O coma pode ocorrer em pacientes que convulsionaram e também em decorrência de edema cerebral generalizado causado ou não por uma crise hipertensiva severa. O coma é um dos quadros mais severos da PE, estando envolvido em número significativo de mortes maternas (Hauth & Cunningham, 1999).

É difícil prever quais pacientes com PE irão convulsionar. A cefaléia occipital e frontal precede a convulsão em 50 a 75% das vezes e as queixas visuais estão presentes em 20 a 30% dos casos (Karnad & Guntupalli, 2005). Até o momento não dispomos de um teste clínico ou laboratorial que prediga a ocorrência de convulsão e/ou dano cerebral. Carecemos de marcadores específicos de predição da eclâmpsia ou de comprometimento neurológico na PEG.

1.5 Proteína S100B

Ao longo das últimas décadas, vários marcadores neurobioquímicos têm sido sugeridos para monitorização de danos cerebrais associados a alterações neurológicas. Entre os marcadores mais estudados destacam-se: NSE (enolase neurônio específico), proteína 14-3-3, proteína tau, poliaminas e proteína S100B (Lima e cols., 2006).

A proteína S100 foi descrita primeiramente por Moore em 1965 e faz parte do grupo das proteínas de baixo peso molecular (10-12kD) ligadora de cálcio com atividade modulatória intra e extracelular. A proteína S100 é considerada a primeira e mais abundante proteína cerebral específica. As principais isoformas conhecidas são S100 $\alpha\alpha$ ($\alpha\alpha$), S100 $\alpha\beta$ ($\alpha\beta$) e S100 $\beta\beta$ ($\beta\beta$). A subunidade β (S100B) é a mais abundante no tecido cerebral, sendo que a S100 $\alpha\alpha$ está presente também no músculo estriado, coração e rins. Embora a proteína S100B esteja localizada principalmente no tecido cerebral (96%), também pode ser detectada nos melanócitos, adipócitos, condrócitos, células epidermais de Langerhans e linfócitos T (Moore, 1965; Fagnart e cols., 1988; Fano e cols., 1995; Portela e cols., 2002).

A Proteína S100B (peso molecular 21kDa) predomina no sistema nervoso central, sendo fisiologicamente produzida e liberada predominantemente pelos astrócitos e células de Schwann (Figura 3). O papel biológico desta proteína não está completamente elucidado; entre as principais possibilidades estão: inibição da proteína da fosforilação, interação com a atividade enzimática em constituintes citoesqueléticos, interação com enzimas nucleares e outros fatores. Também, aventa-se que a proteína S100B, secretada pelos astrócitos, tenha papel

neurotrófico no desenvolvimento e na regeneração fisiológica neuronal. Diferentes concentrações extracelulares de S100B podem ter papel trófico ou tóxico para os neurônios e células da glia (Fagnart e cols., 1988; Zimmer e cols., 1995; Michetti & Gazollo, 2003; Lima e cols.,2006).

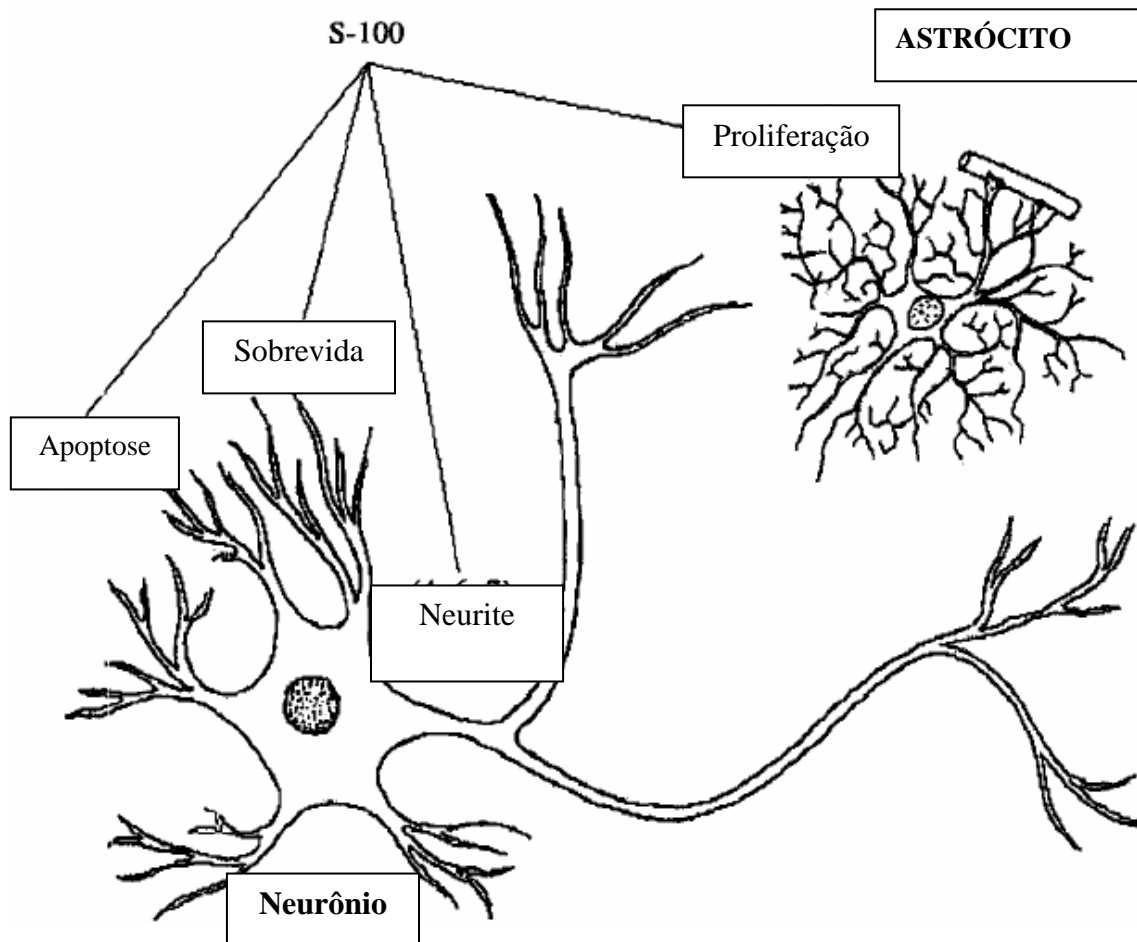


Figura 3. Interação da proteína S100 nas células do sistema nervoso central.
A S100 é sintetizada e secretada nos astrócitos e células de Schwann.
(Fano e cols., 1995)

Inúmeros estudos avaliaram o papel da proteína S100B como marcador periférico de dano neuronal, podendo ser útil na avaliação da

gliose, morte astrocitária e/ou disfunção da barreira hemato-encefálica (Portela e cols., 2002; Tort e cols., 2003).

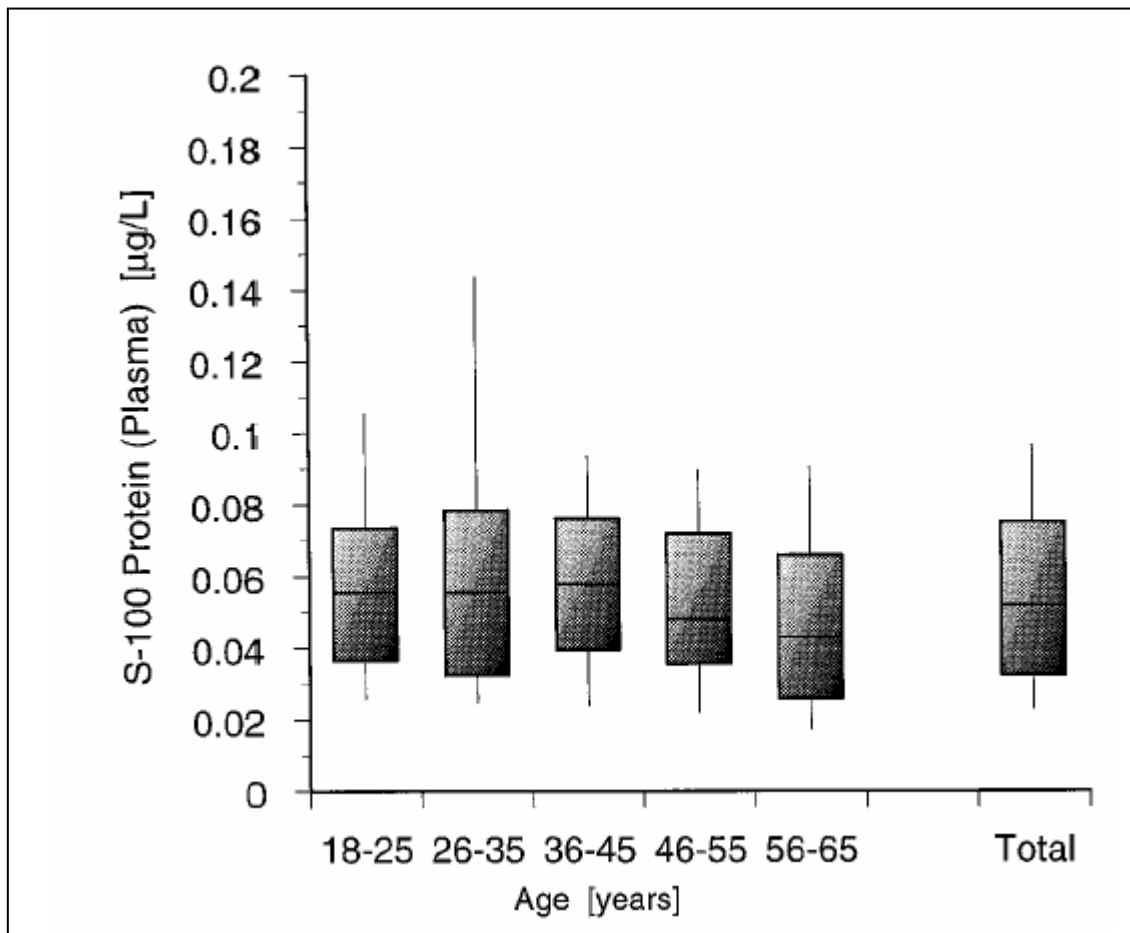
O aumento da proteína S100B sérica e/ou no líquido tem sido estudado em traumatismos cerebrais agudos e crônicos e em patologias como doença de Alzheimer, esquizofrenia, mielopatia pelo HTLV-I, lúpus eritematoso sistêmico (LES), hemorragia subaracnóidea, encefalites, meningites, neurocisticercose, hemorragia subaracnóidea, acidente vascular isquêmico e outros. O aumento da proteína pode ser consequência da morte astrocitária e da gliose reativa (Fagnart e cols, 1988; Nygaard e cols., 1997; Green e cols, 1997; Lima e cols., 2006).

Inicialmente a S100B era dosada somente no líquido e após passou a ser dosada em outros fluidos biológicos. As concentrações aumentadas foram correlacionadas a doenças neurodegenerativas, tumores ou traumas cerebrais e doenças cerebrovasculares. Esta dosagem também foi estudada na medicina perinatal com aplicabilidade na monitorização de crianças com asfixia perinatal e hemorragia intraventricular (Michetti e cols., 2002).

Vários fatores podem influenciar na medida da proteína S100B, entre os quais destacamos sexo, idade, uso de corticóides e adição de anticoagulantes no frasco da coleta.

Nygaard e cols.(1997) estudaram a concentração da proteína S100 no sangue e no líquido de homens e mulheres hígidos e sem história de doença neurológica. A proteína S100 não foi detectada no sangue. A concentração média de S100 no líquido foi diferente entre homens e mulheres, respectivamente, $1,9 \pm 0,7$ $\mu\text{g/L}$ e $1,5 \pm 0,5$ $\mu\text{g/L}$. Esse mesmo estudo observou aumento da S100 com a idade, especialmente entre os homens.

Em estudo realizado por Wiesmann e cols., (1998) entre 200 voluntários hígidos, a concentração da proteína S100B no plasma foi de 0.052 $\mu\text{g/L}$ (percentil 10 = 0.023 $\mu\text{g/L}$ e percentil 90 = 0.097 $\mu\text{g/L}$). Não houve diferença entre os sexos - homens (0.055 $\mu\text{g/L}$) e mulheres (0.048 $\mu\text{g/L}$) - e nem entre



os diferentes grupos de idade (18-25, 36-35, 36-45, 46-55 e 55-65 anos) (Figura 4).

Figura 4. Concentração plasmática da proteína S100B em indivíduos hígidos.
(Wiesmann e cols., 1998)

A dosagem da proteína S100B e suas variações com a idade de indivíduos de ambos os sexos (Figura 5), incluindo neonatos foi estudada por Portela e cols. (2002). Neste estudo, não foram

encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os sexos nos diferentes grupos (neonatos, crianças[4-16 anos],adultos [18-70 anos]). Também, ao analisar os adultos acima de 20 anos, o estudo não observou variação na medida de S100B entre os diversos grupos de idade (16-20, 21-25, 26-30, 30-70 anos). Nos neonatos, a medida foi significativamente maior em relação aos demais grupos de qualquer idade (Portela e cols., 2002).

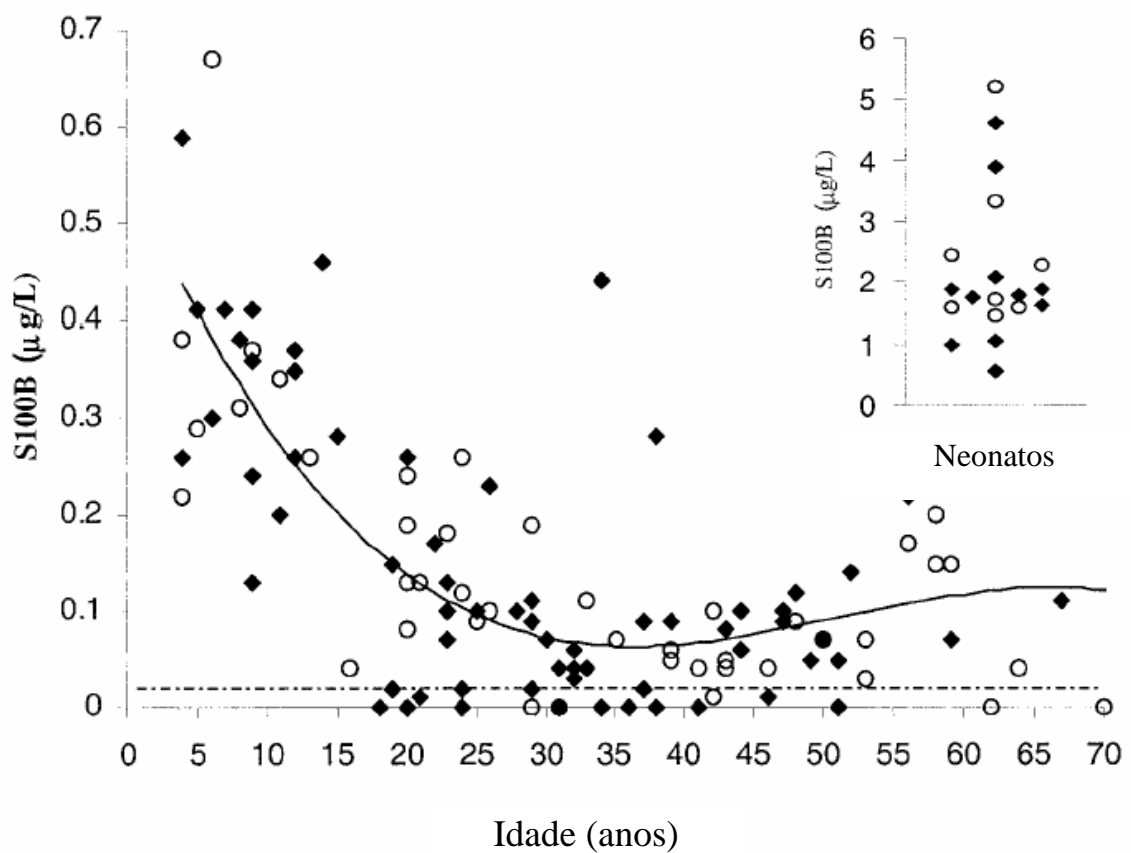


Figura 5. Correlação entre concentração sérica da S100B e idade.
 (◊= masculinos; ○= femininos)
 (Portela e cols., 2002)

As medidas da S100B no sangue de cordão umbilical de neonatos prematuros não varia de forma significativa com o uso de corticóide pela mãe, entretanto a concentração na urina foi diferente (Gazollo e cols., 2003).

O uso de anticoagulante no frasco de coleta interfere na dosagem de S100B e, idealmente, não deve ser utilizado. A heparina e o citrato aumentam os níveis plasmáticos da proteína S100B (Tort e cols., 2003).

Muitos estudos têm sugerido que a S100B pode ser um marcador de valor para a avaliação e acompanhamento de lesões cerebrais numa variedade de situações clínicas (dano ou doença), como após cirurgia cardíaca, parada cardíaca, acidente vascular cerebral isquêmico, trauma craniano, doença de Alzheimer, lúpus eritematoso sistêmico (LES), Síndrome de Down, defeitos do tubo neural, hipóxia perinatal e restrição de crescimento intra-uterino entre outros (Johsson, 2000; Tort e cols., 2003).

O estudo da concentração sérica da proteína S100B entre 25 pacientes com defeitos do tubo neural e 25 controles demonstrou níveis semelhantes entre os grupos (0,860 µg/L vs. 0,580 µg/L) (Netto e cols., 2006).

Petzold e cols. (2002) estudaram o papel dos níveis séricos da proteína S100B como preditor de aumento da pressão intracraniana e mortalidade em pacientes com traumatismo cerebral agudo. A concentração sérica da proteína S100B foi significativamente mais alta no dia da admissão de pacientes que tiveram como desfecho a morte, com sensibilidade de 100% e especificidade de 75 a 83% na predição desta. O estudo concluiu que a concentração de S100B é um biomarcador sensível para predição do aumento da pressão intracraniana e de desfechos fatais em pacientes com traumatismo cerebral agudo.

A doença de Alzheimer apresenta heterogeneidade importante no seu curso com dificuldades para detecção precoce, confirmação diagnóstica, determinação da evolução e do grau de severidade por testes neuropsicométricos. Em estudo realizado

entre 41 pacientes com idade média de 63 anos, os níveis da proteína S100B foram mais altos que em controles, correlacionaram-se com atividade da doença e não variaram com uso de medicações (Schmitt e cols., 2005).

A doença de Parkinson é neurodegenerativa e marcadores periféricos da doença seriam úteis no seu diagnóstico e prognóstico. Em estudo realizado com 40 pacientes portadores da doença de Parkinson, a dosagem sérica de S100B e NSE não tiveram papel como marcadores diagnósticos. A S100B correlacionou-se com o grau de severidade da doença, podendo ser um potencial marcador de progressão da mesma (Schaf e cols., 2005). Novos estudos são necessários para determinar a utilidade da dosagem da S100B e NSE nesta doença.

O lupus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença auto-imune com envolvimento de múltiplos órgãos, onde o comprometimento do sistema nervoso central é uma das complicações mais sérias. Em estudo realizado entre 32 pacientes com LES a dosagem sérica de S100B foi significativamente mais alta do que pacientes controles sem LES. Entre as pacientes com LES, aquelas com síndrome neuropsiquiátrica apresentaram níveis significativamente maiores (0,41[0,39 to 0,65] µg/L) (Figura 6; Portela e cols., 2002).

Alguns estudos também avaliaram a proteína S100B como um marcador de convulsão recente. Embora a S100B tenha sido relatada como aumentada nos tecido e no líquido cerebral de pacientes com epilepsia temporal (Griffin e cols., 1995; Steinhoff e cols, 1999), estudos com dosagem sérica de S100B foram falhos em demonstrar o seu aumento no sangue após convulsões (Palmio e cols., 2001; Buttner e cols., 1999).

Palmio e cols., (2001) estudaram 22 pacientes com convulsão tônico-clônica não tratada e 18 controles. A concentração de S100B e NSE no líquido e no sangue foi semelhante entre pacientes e controles.

Em pacientes com neurocisticercose, a concentração de S100B no sangue e no líquido foi semelhante nos vários grupos estudados, incluindo aqueles com convulsão crônica (Lima e cols., 2006).

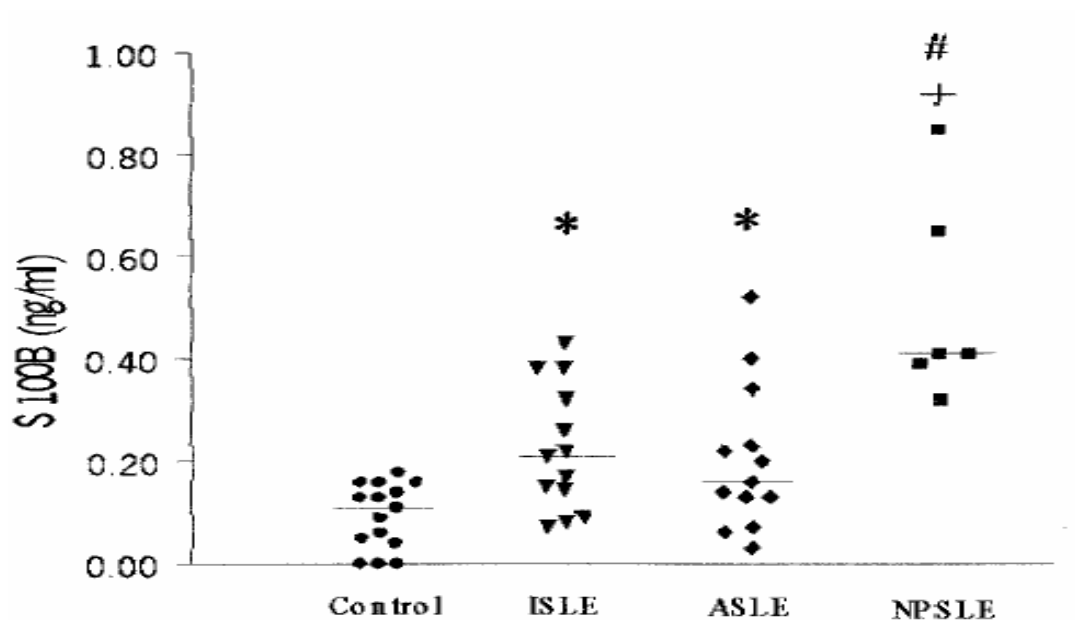


Figura 6. Níveis séricos da proteína S100B em pacientes com lupus eritematoso sistêmico e controles. Control=controles; ISLE= LES inativo; ASLE=LES ativo e NPSLE*= LES com síndrome neuropsiquiátrica; *p <0,05. (Portela e cols., 2002)

O estudo dos níveis séricos de S100B em pacientes com epilepsia idiopática ou com neurocisticercose demonstrou níveis semelhantes aos controles sem patologias (Figura 7). A concentração de S100B foi significativamente mais elevada entre os pacientes com epilepsia e alterações bilaterais no eletroencefalograma comparados aos com exame normal ou com alteração unilateral. Os autores sugerem que isso possa ser pela extensão do dano cerebral e que novos estudos são necessários para confirmação dos achados (Portela e cols., 2003).

O aumento da S100B pode ser um indicador de aumento da pressão intracraniana (Petzold e cols., 2002) e da hipertensão relacionada aos danos causados

por um desvio cardiopulmonar (Schmidt e cols., 2001). No entanto, na fisiopatologia da convulsão por eclâmpsia, ocorre dano e isquemia celular do SNC, sendo possível que o aumento da S100B também possa ser observado nesta situação, antes mesmo da ocorrência da convulsão.

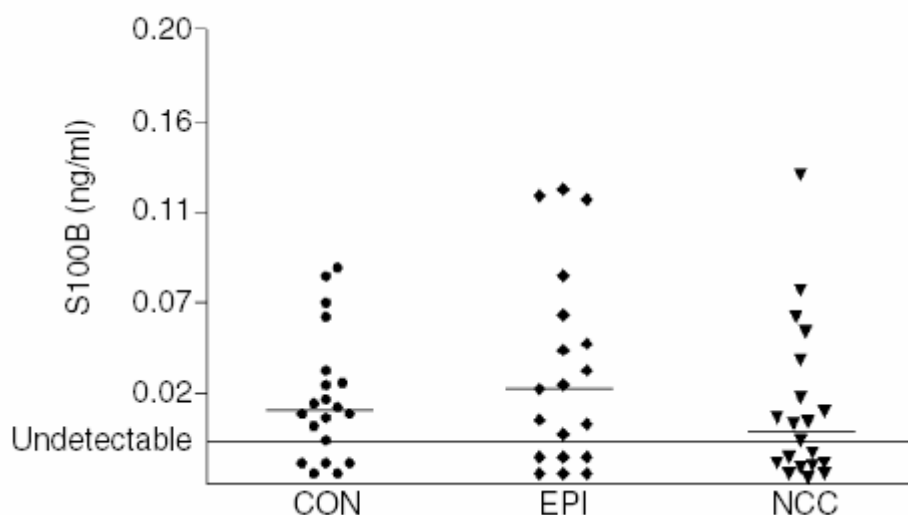


Figura 7. Níveis séricos de S100B (ng/mL) em pacientes com neurocisticercose(NCC), epilepsia(EPI) e controles(CON). (Portela e cols., 2003)

1.6 Proteína S100B e gestação

Vários estudos demonstraram a utilidade da dosagem da S100B durante a gestação e período perinatal em fluidos maternos e fetais no acompanhamento, diagnóstico e prognóstico de várias patologias.

No feto, a dosagem pode ser realizada no líquido amniótico (LA) ou no sangue do cordão umbilical, antes ou logo após o nascimento, assim como na urina e líquido. A participação de marcadores bioquímicos na avaliação de quadros de asfixia neonatal é cada vez mais relevante. Entre as patologias onde esta dosagem pode ser útil destacamos o crescimento intra-uterino restrito (CIUR), síndrome de Down, hemorragia

intraventricular, asfixia neonatal e outros danos neurológicos fetais (Gazzolo e cols., 2002; Michetti & Gazzolo, 2003).

A concentração da proteína S100B no sangue de cordão umbilical de fetos pré-termo e a termo varia com a idade gestacional (IG), tamanho do feto e via de parto (maior nos partos vaginais). Conforme observado em estudo realizado por Gazzolo e cols. (2000) entre 58 recém-nascidos, a proteína S100B tem concentração diferente em fetos prematuros e a termo (Figura 8). Neste mesmo estudo, a concentração de S100B correlacionou-se com a idade gestacional de nascimento, e talvez essas diferenças tenham correlação com a permeabilidade da barreira hemato-encefálica e a circulação cerebral – os quais podem ser diferentes no feto pré-termo (Gazzolo e cols., 2000; Michetti & Gazzolo, 2003).

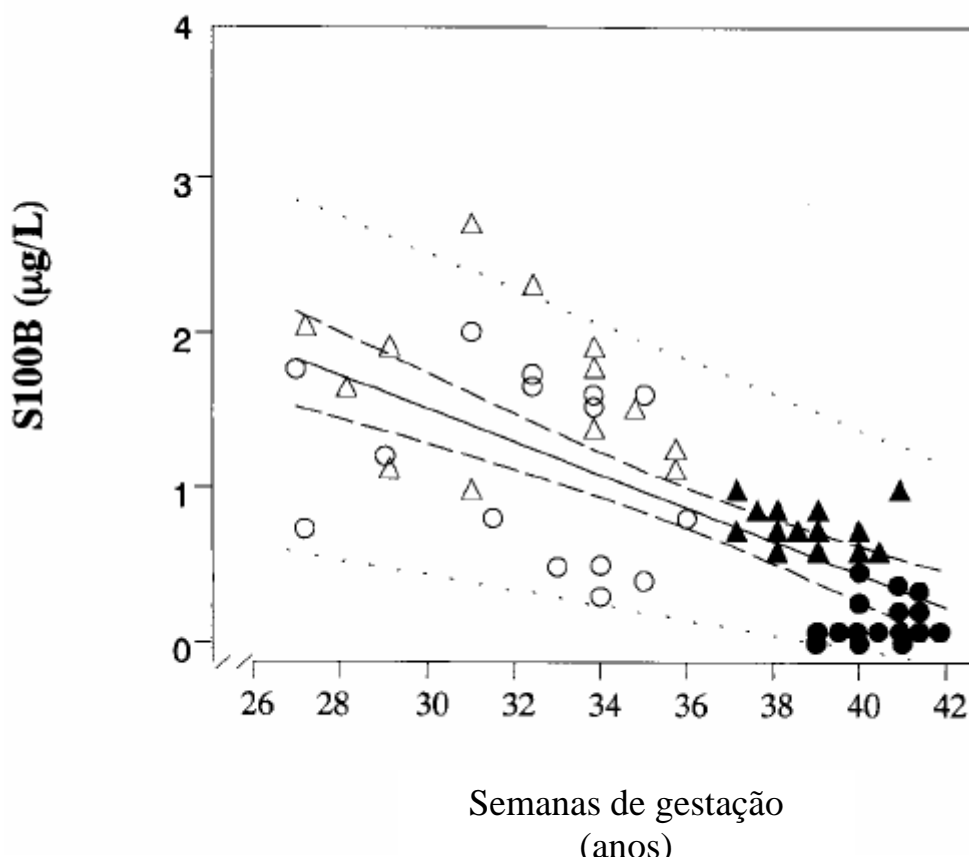


Figura 8. Correlação entre a concentração da proteína S100B ($\mu\text{g/L}$) no sangue de cordão umbilical de fetos a termo e pré-termo com a idade gestacional. (Gazzolo e cols., 2000) (Medianas); \blacktriangle =feminino; \bullet =masculino; vazado=pré-termo.

No LA, a concentração de S100B está correlacionada com a idade gestacional, sugerindo correlação com o desenvolvimento do tecido cerebral. Já há disponível a curva de variação da concentração da S100B no LA ao longo da gestação. A proteína S100B está aumentada em fetos com dano cerebral (Gazollo e cols., 2001; Michetti & Gazollo, 2003).

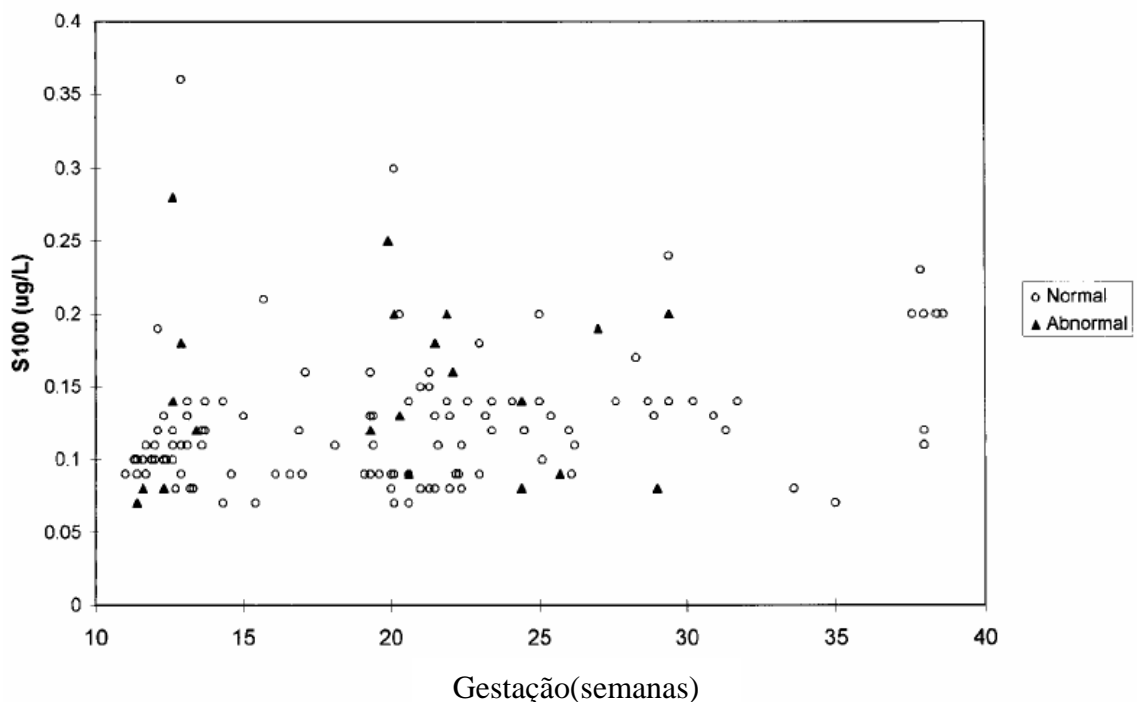


Figura 9. Níveis séricos maternos de S100B em 117 gestantes normais e 22 com Trissomia do 21. (Abraha e cols., 1999)

Os estudos da S100B na predição de Síndrome de Down são controversos (Millez e cols., 1999). No estudo realizado por Abraha e cols. (1999), a concentração sérica materna da S100B em gestantes com e sem fetos com Síndrome de Down não foi diferente (Figura 9). A avaliação da concentração da S100B no LA de 14 gestantes com Síndrome de Down obteve níveis mais elevados desta em relação aos controles (Gazzolo e cols., 2003). O estudo da dosagem da S100B no líquido

amniótico de 96 gestantes com Síndrome de Down e 50 normais (Figura10; Tort e cols., 2004) demonstrou concentrações mais elevadas naquelas com a síndrome. Entretanto a concentração de S100B no líquido amniótico em gestantes com fetos portadores de Síndrome de Down não foi um bom teste isoladamente para o diagnóstico desta síndrome.

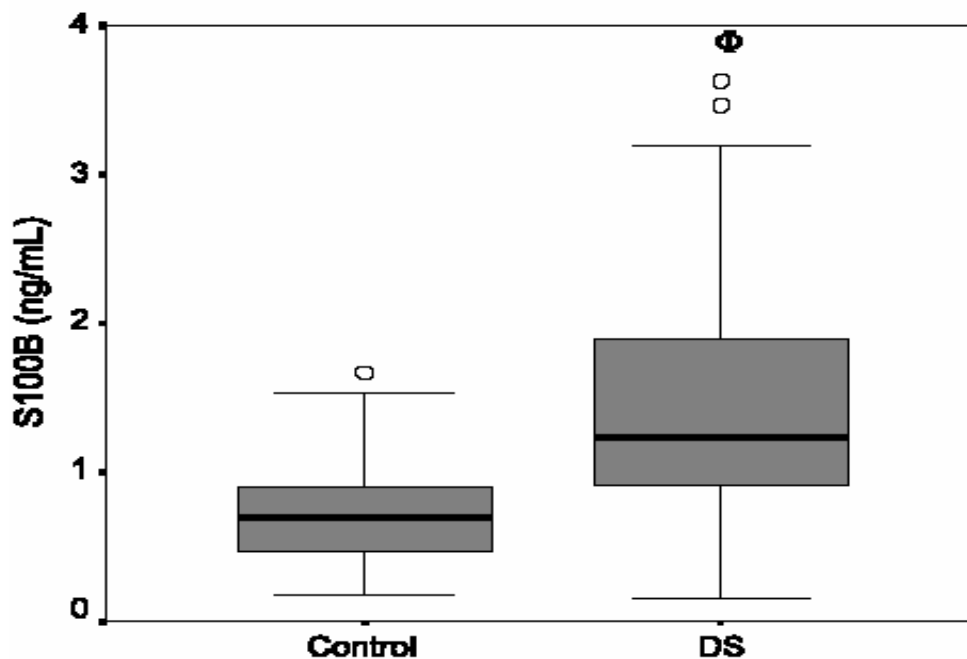


Figura 10. Níveis da proteína S100B no líquido amniótico em fetos com Síndrome de Down (DS) e controles (control) (Boxplot).
 $P < 0.0001$ para valores abaixo de 4 ng/mL
(Tort e cols., 2004)

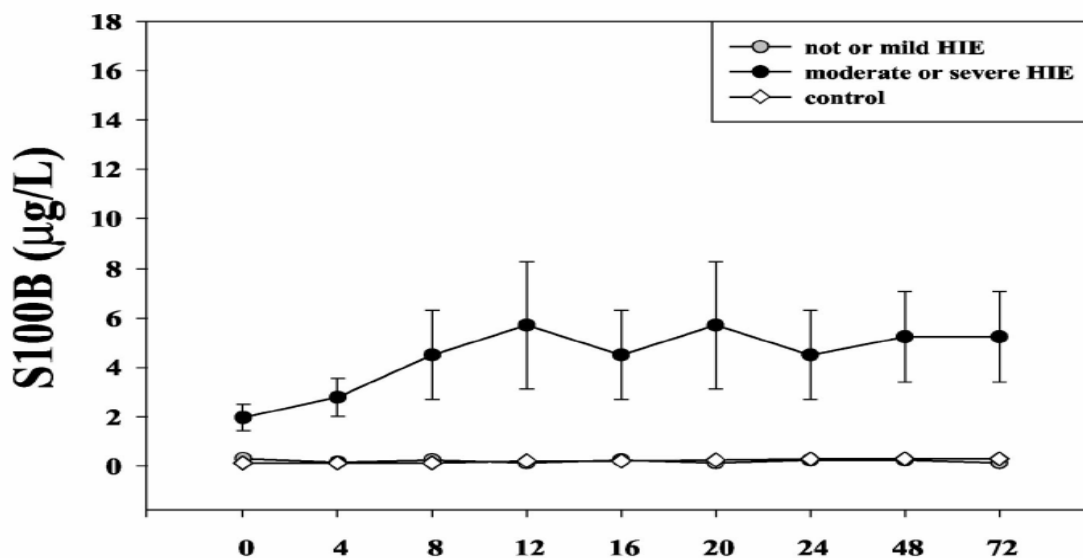
O estudo dos níveis séricos maternos e no sangue de cordão de fetos com CIUR demonstrou níveis maternos indetectáveis (Gazzolo e cols., 2002). Em fetos com CIUR os níveis de S100B são significativamente mais altos que controles de idade gestacional semelhante. Nos fetos com CIUR e redistribuição do fluxo fetal, a concentração da proteína S100B é maior em comparação aos com fluxo normal, sugerindo que esta proteína

possa ser utilizada como indicador de dano cerebral prévio ao nascimento (Gazzolo e cols., 2002). Em outro estudo, Gazzolo e cols. (2002) avaliaram a proteína S100B em RN a termo com asfixia ou hemorragia intraventricular e controles. Estes obtiveram que a S100B correlaciona-se com a ocorrência de hemorragia intraventricular e poderia ser uma forma de detecção precoce da hemorragia intraventricular do RN.

Em estudo de caso-controle (Gazzolo e cols., 2006) entre 106 gestantes com CIUR, a concentração sérica materna de S100B prévia ao nascimento foi maior entre as mães de fetos que desenvolveram hemorragia intraventricular, com uma sensibilidade de 100% (87-100%) e especificidade de 99,3% (97,5-99,5%) para predição de hemorragia intraventricular no RN. Os níveis maternos de S100B foram semelhantes entre controles e aquelas com CIUR sem hemorragia intraventricular após o nascimento.

A encefalopatia hipóxica-isquêmica do RN é patologia de grande impacto na qualidade de vida futura do RN e mudança importante da morbimortalidade perinatal. A sensibilidade e a especificidade da mensuração da proteína S100B na urina (obtida 4 a 72 horas após o nascimento) de RNs com asfixia perinatal são de 91,3% e 94,6%, respectivamente (Figura 11; Gazzolo e cols., 2004). Entre 165 RNs prematuros a dosagem da proteína S100B na urina pôde auxiliar na identificação daqueles com alto risco de morte neonatal (Gazzolo e cols., 2005). A hipóxia neonatal esteve correlacionada positivamente aos níveis séricos de S100B e lactato no primeiro e quarto dia em RN prematuros e a dosagem sérica da S100B mostrou-se promissora como mais um marcador bioquímico de hipóxia neonatal (Martins e cols., 2006).

A dosagem da proteína S100B tem sido largamente estudada na medicina perinatal com futuro promissor como nova ferramenta de auxílio no acompanhamento e prognóstico de diversas patologias.



Monitoring Time-points (hours)

Figura 11. Concentração de S100B ($\mu\text{g/L}$) na primeira urina e 4, 8, 12, 16, 20, 24, 48, e 72 horas após o nascimento em RNs asfixiados.
HIE= encefalopatia hipóxica-isquêmica;
S100B apresenta-se significativamente ($P < 0,01$) mais alta em todos pontos nos fetos com HIE moderada a severa.
(Gazollo e cols, 2004)

1.7 Proteína S-100B e os distúrbios hipertensivos específicos da gestação

Estudos em unidades de tratamento intensivo sugerem que mais de 50% das pacientes obstétricas criticamente doentes têm envolvimento neurológico. Manifestações neurológicas podem resultar de uma variedade de patologias obstétricas, incluindo eclâmpsia, hemorragia cerebral, fígado gorduroso agudo da

gestação, embolia por líquido amniótico. Em algumas pacientes, patologias clínicas pré-existentes como hipertensão, doenças reumatológicas ou neoplasias intracranianas podem piorar durante a gestação e puerpério, resultando em doenças críticas (Kanard & Guntupalli, 2005).

Em estudo realizado no HCPA, entre 55 pacientes com e sem distúrbios hipertensivos específicos da gestação (Figura 12), não ocorreu diferença significativa na concentração sérica de S100B entre as mulheres com hipertensão crônica (0,186 $\mu\text{g/L}$), pré-eclâmpsia (0,185 $\mu\text{g/L}$) e normotensas (0,147 $\mu\text{g/L}$). Entretanto a concentração sérica de S100B foi significativamente maior em pacientes com eclâmpsia (0,424 $\mu\text{g/L}$) quando comparada aos demais grupos (Schmidt e cols., 2004).

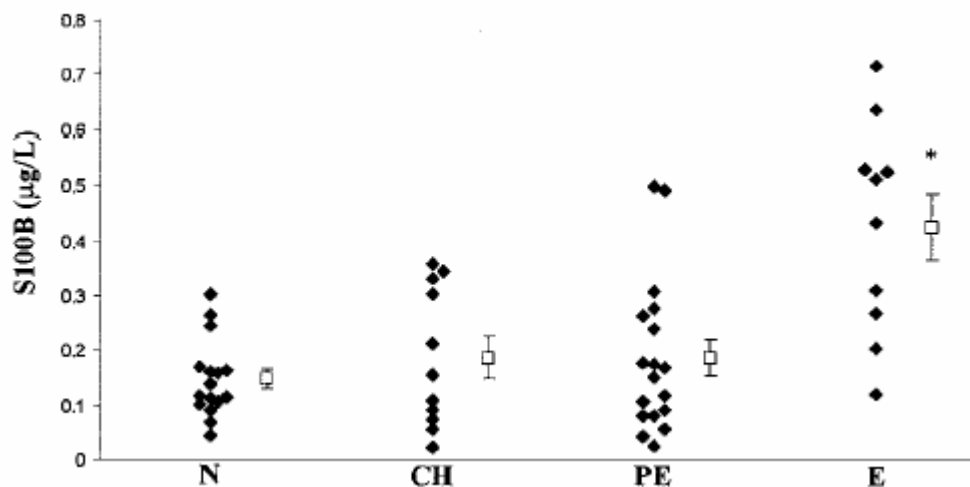


Figura 12. Comparação entre os níveis séricos em 4 grupos de gestantes com e sem hipertensão (*Scatter plot*). N=normotensas; CH=hipertensão crônica; PE=pré-eclâmpsia, E= eclâmpsia
P < 0,05 na comparação entre todos grupos
As barras indicam a média e desvio padrão.
(Schmidt e cols., 2004)

A hemorragia cerebral está presente em graus diferentes nas pacientes com PEG e/ou eclâmpsia. A proteína S100B está

significativamente aumentada em pacientes com hemorragia cerebral. A partir disso podemos suspeitar que ela possa estar aumentada também em pré-eclâmpticas com comprometimento do SNC e eclâmpticas devido ao dano vascular ou às convulsões. Assim, considerando que a S100B tem sido estudada como um marcador de lesão cerebral, e que há na literatura uma necessidade premente de buscar parâmetros que indiquem com segurança a probabilidade de ocorrência de eclâmpsia, a sua determinação pode ser útil no acompanhamento de gestantes com pré-eclâmpsia e eclâmpsia, visto que não existe um marcador periférico que se correlacione ou que indique uma maior probabilidade de comprometimento neurológico nestas doenças.

Atualmente, os sinais premonitórios como cefaléia e alterações visuais são os parâmetros adotados para classificar a paciente como de risco para eclâmpsia. A possível associação entre a dosagem da proteína S100B com eclâmpsia, ou como preditor desta, poderá ser um indicador alternativo de dano cerebral. Seria de suma importância determinar se há correlação entre os parâmetros atualmente utilizados para determinar gravidade (sinais premonitórios, níveis pressóricos, alterações laboratoriais) e a dosagem de S100B.

Haveria um nível crítico de S100B para determinação de gravidade mesmo na ausência de eclâmpsia? A possibilidade de utilizar esta dosagem como marcador de extensão do dano cerebral ou de gravidade poderá significar um exame de fácil execução em vários fluidos biológicos e boa reprodutibilidade.

Sendo assim, sabendo-se que a pré-eclâmpsia é uma doença sem causa completamente esclarecida, todo esforço ou estudo que possa auxiliar no diagnóstico precoce, especialmente dos casos

severos, terá validade no âmbito da saúde pública visando à diminuição da mortalidade materna.

OBJETIVOS

1.8 Objetivos

1.8.1 Objetivo Geral

Determinar os níveis séricos de S100B em gestantes com pré-eclâmpsia severa.

1.8.2 Objetivos específicos

Determinar a correlação entre os níveis séricos de S100B e:

1.8.2.1 níveis pressóricos em gestantes com PEG;

1.8.2.2 presença de sinais premonitórios de eclâmpsia;

1.8.2.3 as alterações laboratoriais em gestantes com PEG;

1.8.2.4 uso de medicamentos em gestantes com

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO DA LITERATURA

1.9 Referências bibliográficas da revisão da literatura

1. Aagaard-Tillery KM, Belfort MA. Eclâmpsia: morbidity, mortality and management. *Clinical Obstetric an Gynecology* 2005; 48(1):12-23.
2. Abraha HD, Noble PL, Nicolaidis KH, Sherwood RA. Maternal serum S100 protein in normal and Down syndrome pregnancies. *Prenat Diagn* 1999; 19(4):334-6.
3. Barton JR & Sibai BH. Cerebral pathology in eclampsia. *Clin Perinatol* 1991; 18:891-910.
4. Belfort MA, Kennedy A, Rassner U. Novel techniques for cerebral in preeclampsia and eclâmpsia. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 2005; 48(2): 387-400
5. Buchbinder A, Sibai BM, Caritis S, Macpherson C, Hauth J, Lindheimer MD. Adverse perinatal outcomes are significant higher in severe gestational hypertension than in mild pré-eclâmpsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 66-71.
6. Buttner T, Lack B, Jager M, Wunsche W, Kuhn W, Muller T et al. Serum levels of neuron-specific enolase and S-100 protein after single tonic-clonic seizures. *J Neurol* 1999; 246:459–61.
7. Cunha Filho JS, Vettorazzi-Stuczynski J, Terres L, Ferronato ME, Vetori DV, Ramos JGL, et al. Avaliação da sensibilidade e especificidade do dipstick como teste de rastreamento para a doença hipertensiva induzida pela gestação. *Revista HCPA* 2000; 20(2): 119-23.
8. Cunningham FG, Gant NF, Leveno KL, Gilstrap III LC, Hauth JC, Wenstrom KD. Williams Obstetrics Hypertensive disorders in pregnancy. New York, McGraw-Hill; 2001. p 567-618.

9. Deruelle P, Coudoux E, Ego A, Houfflin-Debarge V, Codaccioni X, Subtil D. Risk factors for post-partum complications after preeclampsia and HELLP syndrome A study in 453 consecutive pregnancies. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2006;125: 59–65
10. Dineen R, Banks A, Lenthall R. Imaging of acute neurological conditions in pregnancy and puerperium. *Clinical Radiology* 2005; 60: 1156-70.
11. Dominguez MI, Blasco-Ibanez JM, Crespo C, Nacher J, Marques-Mari AI, Martinez-Guijarro FJ. Neural Overexcitation and Implication of NMDA and AMPA Receptors in a Mouse Model of Temporal Lobe Epilepsy Implying Zinc Chelation. *Epilepsia* 2006; 47(5):887-99.
12. Duley L. Maternal mortality associates with hypertensive disorders of pregnancy in Africa, Asia, Latin America and the Caribbean. *Br J Obstet Gynecol* 1992; 99: 547-53.
13. Fagnart, OC, Sindic, CJ, Laterre, C. Particle counting immunoassay of S100 protein in serum. Possible relevance in tumors and ischemic disorders of the central nervous system. *Clin Chem* 1988; 34(7): 1387-91.
14. Fano G, Biocca S, Fulle S, Mariggio MA, Belia S, Calissamo P. The S100B: a protein family in search of a function. *Progress in neurobiology* 1995; 46:71-82.
15. Fisher SJ, Roberts JM. Defects in placentation and placental perfusion. In.: Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy. Lindheimer MD, Roberts JM and Cunningham FG. 2 nd. ed. Stamford: Appleton & Lange, 1999: 377-396.
16. Gaio DS, Schimdt MI, Duncan BB, Nucci LB, Matos MC, Branchetein L. Hypertensive disorders in pregnancy: frequency and associate factors in a cohort of Brazilian women. *Hypertension in Pregnancy* 2001; 20:269-81.
17. Gazzolo , Bruschetti M, Corvino V. Lituânia M, Bruschetti PL, Michetti F. S100B protein concentrations in urine are correlated with gestational age in healthy preterm and term newborns. *Clin Chem* 2001; 47:1132–3.

18. Gazzolo D, Bruschetti M, Corvino V, Lituania M, Sarli R, Bruschetti P, et al. Amniotic fluid levels of S100B protein in normal and trisomy-21 fetuses. *Clin Chim Acta* 2003; 330(1-2):131-3.
19. Gazzolo D, Di Iorio R, Marinoni E, Massetti P, Serra G, Giovannini L, et al. S100B protein is increased in asphyxiated term infants developing intraventricular hemorrhage. *Crit Care Med* 2002; 30(6):1356-60.
20. Gazzolo D, Florio P, Ciotti S, Marinoni E, Di Iorio R, Bruschetti M, et al. S100B protein in urine of preterm newborns with ominous outcome. *Pediatr Res* 2005; 58(6):1170-4.
21. Gazzolo D, Kornacka M, Bruschetti M, Lituania M, Giovannini L, Majewska U et al. Maternal glucocorticoid supplementation and S100B protein in cord and urine of preterm infants. *Clin Chemistry* 2003; 49(7):1215-8.
22. Gazzolo D, Marinoni E, Di Iorio R, Bruschetti PL, Kornacka M, Lituania M, et al. Urinary S100B protein measurements: A tool for the early identification of hypoxic –ischemic encephalopathy in asphyxiated full-term infants. *Crit Care Med* 2004; 32(1):131-6.
23. Gazzolo D, Marinoni E, di Iorio R, Lituania M, Bruschetti PL, Michetti F. Circulating S-100B protein is increased in intrauterine growth-retarded fetuses. *Pediatr Res* 2002; 51(2):215-9.
24. Gazzolo D, Marinoni E, Di Iorio R, Lituania M, Marras M, Bruschetti M, et al. High Maternal Blood S100B Concentrations in Pregnancies Complicated by Intrauterine Growth Restriction and Intraventricular Hemorrhage. *Clin Chem* 2006; 52(5):819-826.
25. Gazzolo D, Vinesi P, Marinoni E, Di Iorio R, Marras M, Lituania M et al. S100B protein concentrations in cord blood: correlations with gestational age in term and preterm deliveries. *Clin Chem* 2000; 46:998–1000.

26. Green, AJ, Harvey, RJ, Thompson, EJ, Rossor, MN. Increased S100beta in the cerebrospinal fluid of patients with frontotemporal dementia. *Neurosci Lett* 1997; 235(1-2):5-8.
27. Griffin WS, Yeralan O, Sheng JG, Boop FA, Mrak RE, Rovnaghi CR et al. Overexpression of neurotrophic cytokine S100B in human temporal lobe epilepsy. *J Neurochem* 1995; 65:228–33.
28. Haddad B, Deis S, Goffinet F, Paniel BJ, Cabrol D, Sibai BM. Maternal and perinatal outcomes during expectant management of 239 severe preeclamptic women between 24 and 33 week's gestation. *American Journal of Obstetrics and gynecology* 2004; 190:1590-7.
29. Haddad B, Sibai B. Expectant management of severe preeclampsia: propped candidates and pregnancy outcome. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 2005; 48(1): 430-40.
30. Hant MD, Sibai BM, Caritis S, Hauth J, Lindheimer MD, MacPherson. Perinatal outcome in women with recurrent pré-eclâmpsia compared with women who developed pré-eclâmpsia in nulliparas. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 422-26.
31. Hauth JC, Cunningham FC. Preeclampsia – eclampsia. In.: In.: Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy. Lindheimer MD, Roberts JM and Cunningham FG. 2 nd. ed. Stamford: Applleton & Lange, 1999: 169-199.
32. Hauth JC, Ewell MG, Levine RL, Esterlitz JR, Sibai BM, Curet LB. Pregnancy outcomes in healthy nulliparas women who subsequently developed hypertension. *Obstetrics & gynecology* 2000; 95:24-8.
33. Hnat MD, Sibai BM, Caritis S, Hauth J, Lindheimer MD, MacPherson C, et al. Perinatal outcome in women with recurrent preeclampsia compared with

- women who develop preeclampsia as nulliparas. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186(3):422-6.
34. Johnsson P, Backstrom M, Bergh C, Jonsson H, Luhrs C, Alling C. Increased S100B in blood after cardiac surgery is a powerful predictor of late mortality. *Ann Thorac Surg* 2003; 75(1):162-8.
35. Johnsson P. S100-B in blood: a marker of brain damage or simply a covariate? S-100Bin blood: a marker of brain damage or simply a covariate? *Scand Cardiovasc J* 2000; 34(6):548-9.
36. Karnad DR, Guntupalli KK. Neurologic disorders in pregnancy. *Crit Care Med* 2005; 33(10):S362-71.
37. Lima JE, Walz R, Tort A, Souza D, Portela L, Bianchin MM, et al. Serum and cerebrospinal fluid S100B concentrations in patients with neurocysticercosis. *Braz J Med Biol Res.* 2006; 39(1):129-35
38. Martins RO, Rotta NT, Portela LV, Souza DO. S100B protein related neonatal hypoxia. *Arq Neuropsiquiatr* 2006; 64(1):24-9.
39. Martins-Costa, SH, Ramos JG, Barros E, Vettorazzi-Stuczynski J, Brietzke E. Doença hipertensiva na gravidez. In: Freitas F, Martins-Costa SH, Ramos JGL e Magalhães JA. Rotinas em Obstetrícia. 5ed. Porto Alegre: Artes Médicas; 2006. p.389-406.
40. Maternal Mortality in 2000: Estimates developed by WHO, UNICEF and UNFPA. http://www.who.int/reproductivehealth/publications/maternal_mortality_2000/mme.pdf.
41. Michetti F, Gazzolo D. S100B in pregnancy. *Clinica Chimica Acta* 2003; 335:1-7.
42. Michetti F, Gazzolo D. S100B protein in biological fluids: a tool for perinatal medicine. *Clinical Chemistry* 2002; 48(12):2097-104.
43. Milliez, J, Dahoun A, Boudraa M. Computed tomography of the brain in eclampsia. *Obstet Gynecol* 1990; 75:975-80.

44. Ministério da Saúde do Brasil. Pacto Nacional pela Redução da Mortalidade Materna e Neonatal. Versão aprovada na reunião da Comissão Intergestores – TRIPARTITE realizada em 18/03/04. [citado 2006 abril 22] Disponível em: <http://dtr2002.saude.gov.br/proesf/14-Material/Info/PactoAprovadoTripartite.pdf>
45. Ministério da Saúde do Brasil. Secretaria de Atenção a Saúde. Departamento de Ações Programáticas e Estratégicas. Área Técnica de Saúde da Mulher. Manual dos Comitês de Mortalidade Materna. 3ª Edição – versão preliminar. Brasília, 2005.
46. Moore, BW. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 1965; 19(6): 739-44.
47. Muller F, Ngo S, Rebiffe M, Oury JF, Uzan S, Satge D. Maternal serum S100B protein is ineffective for Down Syndrome Screening. *Prenat Diagn* 1999; 19 (11):1086.
48. Ness RB, Roberts JM. Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: a hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 1365-70.
49. Netto CB, Portela LV, Felix TM, Souza DO, Goncalves CA, Giugliani R. Serum S100B levels in patients with neural tube defects. *Clinica Chimica Acta* 2006; 364(1-2):275-8.
50. Nygaard, O, Bodil, L, Romner, B. Age and Sex-related changes of S-100 protein concentrations in cerebrospinal fluid and serum in patients with no previous history of neurological disorders. *Clin Chem* 1997; 43(3):541-3.
51. Palmio J, Peltola J, Vuorinen P, Laine S, Suhonen J, Keranen T. Normal. CSF neuron-specific enolase and S-100 protein levels in patients with recent non-complicated tonic-clonic seizures. *J Neurol Sci* 2001; 183(1):27-31.

52. Petzold A, Green AJ, Keir G, Fairley S, Kitchen N, Smith M, Thompson EJ. Role of serum S100B as an early predictor of high intracranial pressure and mortality in brain injury: a pilot study. *Crit Care Med* 2002; 30(12):2705-10.
53. Portela LV, Brenol JC, Walz R, Bianchin M, Tort AB, Canabarro UP, et al. Serum S100B levels in patients with lupus erythematosus: preliminary observation. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2002; 9(1):164-6.
54. Portela LV, Tort AB, Schaf DV, Ribeiro L, Nora DB, Walz R, et al. The serum S100B concentration is age dependent. *Clin Chem* 2002; 48(6):950-2.
55. Portela LV, Tort AB, Walz R, Bianchin M, Trevisol-Bittencourt PC, Wille PR, et al. Interictal serum S100B levels in chronic neurocysticercosis and idiopathic epilepsy. *Acta Neurol Scand* 2003;109(1):84.
56. Ramos JG & Martins-Costa, SH. Eclâmpsia. In: Freitas F, Martins-Costa SH, Ramos JGL e Magalhães JA. Rotinas em Obstetrícia. 5ed. Porto Alegre: Artes Médicas; 2006. p.414-423.
57. Ramos JGL, Martins-Costa SH, Matias M, Guerin YL, Barros E. Urinary protein/creatinin ratio in pregnant women. *Hypertension in Pregnancy* 1999; 18: 209-218.
58. Ramos JGL, Martins-Costa SH, Vettorazzi-Stuczynski J e Brietzke E. Morte Materna em Hospital Terciário do Rio Grande do Sul – Brasil: um estudo de 20 anos. *RBGO* 2003; 25:431-6.
59. Roberts JM, Pearson GD, Cutler JA, Lindheimer MD. Summary of the NHLBI working group on Research on hypertension during pregnancy. *Hypertension in pregnancy* 2003; 22(2):109-27.
60. Roberts JM, Redman CW. Pre-eclampsia: more than pregnancy-induced hypertension. *The Lancet* 1993; 341: 1447-51.
61. Rotermundt M, Peters M, Prehn JH, Arolt V. S100B in brain damage and degeneration. *Microsc Res Tech* 2003, 60(6): 614-32.

62. Ruthenford JM, Moody A, Crawshaw S, Rubin PC. Magnetic resonance spectroscopy in pre-eclampsia: evidence of cerebral ischaemia. *Br J Obstet Gynaecol* 2003; 110:416-23.
63. Schaf DV, Tort AB, Fricke D, Schestatsky P, Portela LV, Souza DO, et al. S100B and NSE serum levels in patients with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2005; 11(1):39-43.
64. Schmidt AP, Portela, LVC, Tort,ABL, Amaral OB, Schmidt AP, Vettorazzi-Stuczynski J et al. Serum S100B protein in pregnancy complicated by hypertensive disorders: a case-control study. *Clin Chem* 2004; 50(2):435-38.
65. Schmitt A, Bertsch T, Henning U, Tost H, Klimke A, Henn FA, et al. Increased serum S100B in elderly, chronic schizophrenic patients: negative correlation with deficit symptoms. *Schizophr Res* 2005; 80(2-3): 305-13.
66. Secretaria da Saúde e Secretaria da Coordenação e planejamento do Rio Grande do Sul. [citado 2006 abril 22] Disponível em: <http://www.scp.rs.gov.br/principal.asp>.
67. Sibai B, Dekker G and Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005; 365:785-99.
68. Sibai BM, Ewell M, Levine RJ, Klebanoff MA, Esterlitz J, Catalano PM, et al. Risk factors associated with preeclampsia in healthy nulliparous women. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 1003-10.
69. Sibai BM. Diagnosis and management of gestational hypertension and preclampsia. *Obstetrics & Gynecology* 2003; 102: 181-92.
70. Sibai BM. Diagnosis, prevention and management of eclampsia. *Obstet Gynecol* 2005; 105:402-10.
71. Smets EM, Visser A, Go AT, Van Vugt JM, Oudejans CB. Novel biomarkers in preeclampsia. *Clin Chim Acta* 2006, 364(1-2):22-32.

72. Steinhoff BJ, Tumani H, Otto M, Mursch K, Wiltfang J, Herrendorf G, et al. Cisternal S100 protein and neuron-specific enolase are elevated and site-specific markers in intractable temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 1999; 36(1):75-82.
73. Stigbrand T, Nyberg L, Ullen A, Haglid K, Sandstrom E, Brundell J. A new specific method for measuring S100B in serum. *Int J Biol Markers* 2000; 15(1):33-40.
74. Stuczynski JV, Ramos JGL, Martins-Costa SH. Influência da temperatura ambiental no desenvolvimento da doença hipertensiva específica da gestação. *Femina* 2003, 31(5): 435-8.
75. Stuczynski JV. Associação entre temperatura ambiental e hipertensão arterial em primigestas. *RBGO* 2002, 24(6):420.
76. Tanovic A, Alfaro V. Glutamate-related excitotoxicity neuroprotection with memantine, an uncompetitive antagonist of NMDA-glutamate receptor, in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Rev Neurol* 2006; 42(10):607-16.
77. Taylor RN, Roberts JM. Endotelial cell dysfunction. In.: Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy. Lindheimer MD, Roberts JM and Cunningham FG. 2nd. ed. Stamford: Appleton & Lange, 1999: 395-429.
78. Thomas SV. Neurological aspects of eclâmpsia. *J Neurol Sci* 1998; 155(1):37-43.
79. Thomas T, Jophy R, Mhaskar A, Misquith D. Are we increasing serious maternal morbidity by postponing termination of pregnancy in severe pre-eclâmpsia/eclâmpsia? *J Obstet Gynaecol* 2005 ; 25(4): 347-51.
80. Tort ABL, Portela LV, Tavares MP, Goncalves CA, Netto C, Giugliani R, Souza DO. Specificity and sensitivity of S100B levels in amniotic fluid for Down syndrome diagnosis. *Clinica Chimica Acta* 2003; 330: 131-33.

81. Tort AB, Dietrich MO, Goncalves CA, Souza DO, Portela LV. Influence of anticoagulants on the measurement of S100B protein in blood. *Clin Biochem* 2003; 36(7): 519-22.
82. Tort AB, Portela LV, Tavares MP, Goncalves CA, Netto C, Giugliani R, Souza DO. Specificity and sensitivity of S100B levels in amniotic fluid for Down syndrome diagnosis. *Life Sci* 2004; 76(4):379-84.
83. Vatten JL, Skjaerven R. Is pre-eclampsia more than one disease? *BJOG* 2004; 111: 298-302.
84. Wagner LK. Diagnosis and management of preeclampsia. *American Family Physician* 2004; 70(12):2317-24.
85. Ward K and Lindheimer MD. Genetic factors. In.: Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy. Lindheimer MD, Roberts JM and Cunningham FG. 2nd. ed. Stamford: Appleton & Lange, 1999: 431-452.
86. Wen SW, Huang L, Liston R, Heaman M, Baskett T, I.D. Rusen ID, et al. Severe maternal morbidity in Canada, 1991–2001. *CMAJ* 2005; 173(7):1-7.
87. Wiesmann M, Missler U, Gottmann D, Gehring S. Plasma S-100b protein concentration in healthy adults is age- and sex-independent. *Clin Chem* 1998; 44:1056–7.
88. Working Group on High Blood Pressure In Pregnancy. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy (NHBPEP). *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:S1–22.
89. Yücesoy G, Ozkan S, Bodur H, Tan T, Caliskan E, Vural B, et al. Maternal and perinatal outcome in pregnancies complicated with hypertensive disorder of pregnancy: a seven year experience of a tertiary care center. *Arch Gynecol Obstet* 2005; 273(1):43-9.
90. Zimmer, DB, Cornwall, EH, Landar, A, Song, W. The S-100 protein family: history, function, and expression. *Brain Res Bull* 1995; 37(4):417-29.

ARTIGO ORIGINAL 1 EM PORTUGUÊS

3. Artigo original 1 em português

Níveis séricos da proteína S100B em pacientes com pré-eclâmpsia grave

Janete Vettorazzi, Thiago Ávila, Sérgio H. Martins-Costa, Diogo Souza, Luís V.C. Portela, Adriana P. Schmidt, José Geraldo Lopes Ramos.

Departamento de Ginecologia e Obstetrícia – Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
Departamento de Bioquímica - ICBS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Porto Alegre – Rio Grande do Sul – Brasil.

(✉) Janete Vettorazzi

Avenida Ramiro Barcelos, 2350/1125.

CEP 90035-003. Porto Alegre, RS, Brazil.

Phone/fax: (55-51) 21018117/33789992

E-mail: janetev@terra.com.br

Agradecimentos:

Este estudo teve apoio das seguintes agências de pesquisa FINEP/HCPA
CNPq/PRONEX (#41960904).

Condensação:

A concentração sérica da proteína S100B em pacientes com pré-eclâmpsia grave está
significativamente aumentada em relação a gestantes normotensas.

Submetido a revista científica *Clinical Chemistry*.

Resumo

Objetivo: determinar os níveis séricos da proteína S100B em gestantes com pré-eclâmpsia grave. Métodos: estudo de caso-controle. Foram coletadas amostras de sangue de 29 gestantes com pré-eclâmpsia severa, 13 com pré-eclâmpsia leve e 16 normotensas no Centro Obstétrico do Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Brasil. A proteína S100B foi mensurada utilizando-se o ensaio imunoluminométrico (Lia-mat Sangtec100[®] Medical, Bromma, Sweden). Resultados: 58 gestantes com idade média de 26,7 ($\pm 8,8$) anos e idade gestacional média de 33,7 ($\pm 4,1$) semanas. O nível sérico da proteína S100B nas pacientes com pré-eclâmpsia severa (0.11 [0.05-0,22] $\mu\text{g/L}$) foi significativamente ($P = 0,002$) mais alto quando comparado às pacientes normotensas (0.02 [0,003-0,08] $\mu\text{g/L}$) e não mostrou diferença ($P = 0,1$) quando comparados às com PEL (0.06 [0,01- 0,12] $\mu\text{g/L}$). Conclusões: a dosagem sérica da proteína S100B é um marcador sérico de pré-eclâmpsia grave. Novos estudos são necessários para determinar o valor preditivo da S100B na ocorrência ou acompanhamento de desfechos mais graves em gestantes com pré-eclâmpsia grave.

Palavras-chave: gestação, hipertensão, pré-eclâmpsia, marcador sérico, proteína sérica, proteína S100B.

Introdução

Os distúrbios hipertensivos específicos da gestação ainda são a principal causa de morte materna no Brasil. As pacientes com pré-eclâmpsia severa representam a maioria das mortes maternas relacionadas à hipertensão (Ramos e cols., 2003; MS 2004). As complicações neurológicas ocorrem em até 10% dos casos das pacientes com doença hipertensiva na gestação compreendendo hemorragia, eclâmpsia, coma, perda de visão, afasia, psicose, acidente cerebrovascular e outros. Estudos recentes observaram que entre 14 mortes maternas relacionadas à hipertensão na gestação, em 9 havia relato de hemorragia intracraniana (Ruthenfort e cols., 2003, Dineen e cols., 2005; Aagaard-Tillery & Belfort, 2005). Até o momento, os aspectos clínicos e exames realizados rotineiramente não predizem com segurança quais pacientes irão evoluir para quadros de maior gravidade e complicações graves como eclâmpsia, hemorragia cerebral e outros (Karnad & Guntupalli, 2005).

A proteína S100 é ligadora de cálcio e está presente em vários tecidos, sendo considerada a mais abundante proteína cerebral específica. A isoforma S100B está presente em altas concentrações no sistema nervoso cerebral (SNC), onde constitui 80-90% do total de S100, localizando-se principalmente em astrócitos e células de Schwann (Fano, 1995). A proteína S100B tem sido dosada em vários fluidos corporais como líquido, líquido amniótico, sangue de cordão e sangue periférico. Muitos estudos têm sugerido que a proteína S100B é um marcador geral de dano ou disfunção em doenças cerebrais agudas ou crônicas, podendo ser utilizada como marcador de prognóstico ou dano neurológico (Gazzolo e cols., 2002; Portela e cols., 2002; Tort e cols., 2003; Gazzolo e cols., 2004; Netto e cols., 2005),

Estudo realizado recentemente (Schmidt e cols., 2004) detectou níveis séricos elevados de S100B nas pacientes com eclâmpsia quando comparados as demais pacientes com distúrbios hipertensivos específicos da gestação. Este foi o primeiro

estudo correlacionando níveis séricos de S100B aos distúrbios hipertensivos da gestação. Até o momento, não dispomos de preditores específicos de gravidade neurológica na pré-eclâmpsia (PE), sendo estes fundamentais para a diminuição do número de mortes maternas.

O objetivo deste estudo é determinar os níveis séricos de S100B em pacientes com pré-eclâmpsia grave e sua correlação com outros parâmetros de gravidade na pré-eclâmpsia.

Pacientes e Métodos

A proteína S100B foi mensurada em gestantes com pré-eclâmpsia grave ou severa (PEG), pré-eclâmpsia leve (PEL) e normotensas no Centro obstétrico (CO) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) que é um hospital terciário do sul do Brasil. A classificação dos distúrbios hipertensivos foi realizada conforme a recomendação do Grupo de Trabalho em Hipertensão do Programa Nacional de Educação em Hipertensão Arterial do Ministério da Saúde dos Estados Unidos (NHBPEP, 2000).

Estudo de caso-controle desenvolvido com aprovação do Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Todas as pacientes alocadas assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 1).

Foram elegíveis para o estudo gestantes com mais de 20 semanas admitidas para avaliação ou em trabalho de parto. Os critérios de exclusão foram história atual ou passada de doença neurológica, convulsões por outras causas e infecção pelo vírus HIV. As pacientes foram atendidas pelos médicos assistentes conforme a rotina local e os pesquisadores coletaram informações através da aplicação do instrumento de pesquisa padronizado (Anexo 2).

Foram coletadas amostras de sangue venoso em tubo à vácuo sem anticoagulante e enviado para o laboratório para centrifugação. O soro foi armazenado

a -70°C até o momento da análise. A dosagem da proteína S100B foi realizada através de ensaio imunoluminométrico disponível comercialmente (Lia-mat Sangtec100[®] Medical, Bromma, Sweden). As amostras foram medidas em duplicata e analisadas no mesmo experimento.

Para o banco de dados e análise estatística utilizamos os programas SPSS (Ver 12.0) e EPI-INFO (Ver 6.0). A proteína S100B foi descrita através da mediana e amplitude interquartil e as demais variáveis como média e desvio padrão (DP). A comparação entre os grupos foi feita com a utilização do teste de Kruskal Wallis, Tukey, Mann-Whitney, ANOVA e teste T de Student. Para a correlação das variáveis quantitativas foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman. Consideramos $P < 0.05$ para significância.

Resultados

Foram estudadas 58 gestantes com média de idade de $26,7 \pm 8,8$ anos, sendo 13 com PEL, 29 como PEG e 16 normotensas. Na Tabela 1, podemos observar as principais características clínicas e epidemiológicas da população estudada. A idade gestacional média foi de $33,7 \pm 4,1$ semanas, sendo semelhante entre normotensas e PEG ($33,4 \times 32,5$ semanas). A pressão arterial foi significativamente menor no grupo de pacientes normotensas e, dentre as pacientes com pré-eclâmpsia, o grupo de maior gravidade também apresentou níveis pressóricos significativamente mais altos ($P < 0,01$). Entre as pacientes com PEG, 6 (19,3%) apresentavam síndrome HELLP (hemólise, aumento enzimas hepáticas e plaquetopenia) no momento da coleta e 2 evoluíram para eclâmpsia. Os índices de Apgar no quinto minuto e a idade gestacional do nascimento foram significativamente menores nas pacientes com PEG.

O nível sérico da proteína S100B nas pacientes com pré-eclâmpsia grave ($0,11 [0.05-0,22] \mu\text{g/L}$) foi significativamente ($P=0,002$) mais alto quando comparado às

pacientes normotensas (0,02 [(0,003-0,08] µg/L) e não mostraram diferença (P=0,1) quando comparados às com PEL (0,06 [0,01- 0,12] µg/L)) (Figura 1).

As pacientes com síndrome HELLP apresentaram níveis séricos de S100B (0,12 [0,06-0,37] µg/L) semelhante às demais com PEG (0,11 [0,05-0,22] µg/L).

Entre todas pacientes com PEG, 62,1% apresentaram sinais premonitórios de eclâmpsia em algum momento de sua internação, sendo que somente 27,6% persistiam com sinais premonitórios no momento da coleta e 34,5% tiveram crise hipertensiva que necessitou de tratamento medicamentoso no dia da coleta. A cefaléia foi o sinal mais freqüente, estando presente em 66,6% das vezes. Os níveis séricos de S100B não foram diferentes entre as pacientes que haviam apresentado ou estavam com sinais premonitórios no momento da coleta (P = 0,4 e 0,8). O uso de anti-hipertensivos cronicamente ou crise hipertensiva não foram correlacionados (P = 0,35) aos níveis séricos de S100B. O uso de corticóide para maturidade pulmonar fetal não interferiu na concentração de S100B (P = 0,35).

Entre as pacientes com PEG, os níveis séricos de S100B não variaram significativamente (P = 0,4) nas diferentes idades gestacionais. Não houve correlação entre S100B e os demais parâmetros laboratoriais de gravidade como plaquetas, proteinúria de 24 horas e provas de função hepática e renal ou níveis pressóricos.

Tabela 1. Características clínicas das pacientes e controles.

	Normotensas	PEL	PEG	P
n	16	13	29	
Idade (anos)	24,4± 6,9	25,9 ±10,3	28,1±8,9	> 0,05
Número de gestações prévias	3,4±2	2,8±1,8	2,1±1,5	0,9
IG (semanas)	33,4±4,9	36,7±2,7	32,5±3,7	0,07
Peso nascimento (g)	2495±886	2980 ±589	1791 ^b ±824	< 0,001
Apgar 5° minuto	9±1,1	9,3 ±0,6	8,2 ^b ±1,8	0,03
PAS (mm Hg)	111,2±9,5	139,5±18	156,1 ^c ±16,7	0,006
PAD (mm Hg)	69,5±8,8	89,4±8,6	99,3 ^c ±10,9	0,01

Variáveis descritas como média ± desvio padrão; Testes estatísticos: ANOVA e Tukey
 PEL=pré-eclâmpsia leve, PEG=pré-eclâmpsia grave, IG=idade gestacional;
 PAS/PAD=pressão arterial sistólica e diastólica.

a = significativamente maior nas normotensas comparadas as demais.

b = significativamente menor entre PEG comparada às demais.

c = significativamente maior em relação aos demais grupos.

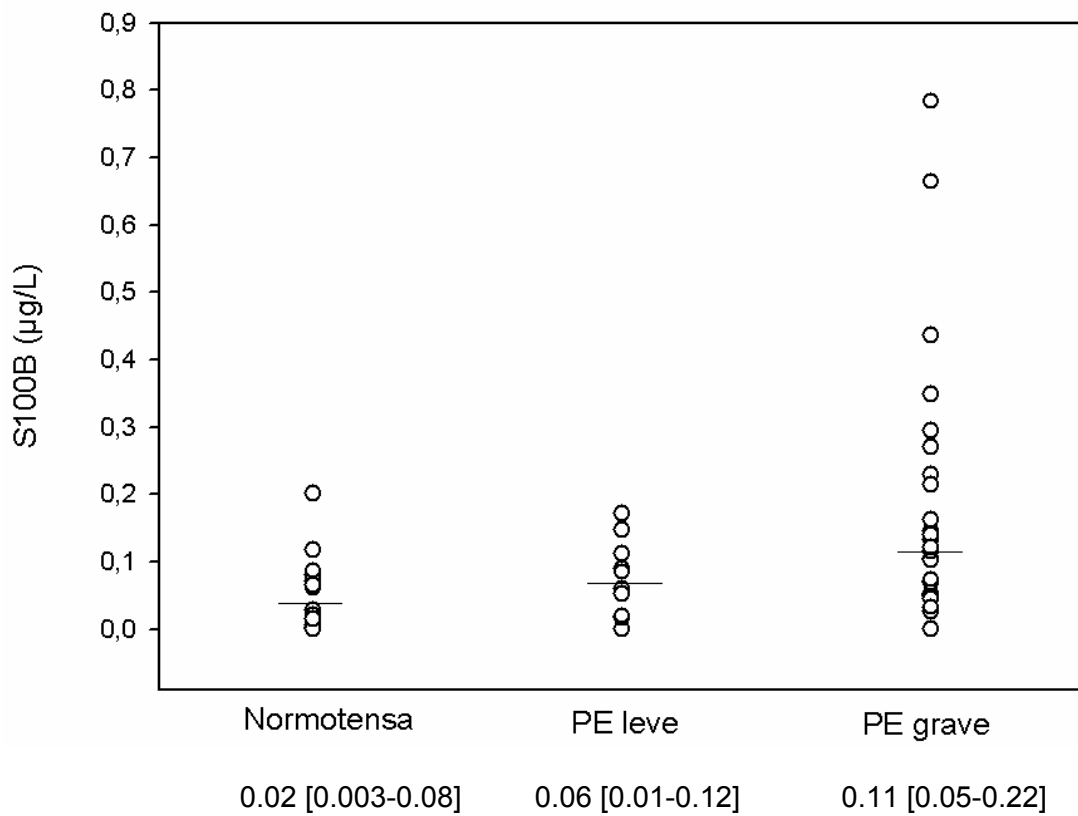


Figura 1. Distribuição dos níveis séricos da proteína S100B em gestantes normotensas e com pré-eclâmpsia (PE) leve ou grave.

Mediana [intervalo interquartil]

Teste Tukey: (PEG vs. normotensa: $P = 0,02$; PEG vs. PEL: $P = 0,1$;

PEL vs. normotensa: $P = 0,46$).

Discussão

A proteína S100B é expressa e liberada predominantemente por astrócitos, e sua ação neuro e gliotrófica tem sido relacionada ao desenvolvimento e manutenção do SNC. Com isso, níveis aumentados de S100B no fluido cerebrospinal ou no soro podem indicar ativação astrocitária ou disfunção da barreira hemato-encefálica, o que tem estimulado seu estudo como marcadora de dano ao SNC em doenças agudas ou crônicas, incluindo isquemia e hemorragia cerebral, esclerose múltipla, Alzheimer e esquizofrenia (Michetti & Gazzolo, 2002; Michetti & Gazzolo, 2003; Karnad & Guntupalli, 2005).

O aumento da S100B pode ser secundário a alterações traumáticas e/ou degenerativa do sistema nervoso central, podendo estar presentes modificações perfusionais, edema e isquemia (Fano, 1995). Na PE também estão presentes alterações vasculares com vasoespasmo e até isquemia e edema cerebral (Smets e cols., 2006). Portanto, é possível que o aumento de S100B observado neste estudo possa, na verdade, preceder a ocorrência de convulsões ou outras manifestações neurológicas nas pacientes com PEG, uma vez que em estudo anterior (Schmidt e cols., 2004) os níveis séricos de S100B foram significativamente mais altos nas pacientes com eclâmpsia em relação as demais gestantes com ou sem hipertensão. Entretanto, no referido estudo as pacientes com PEL e PEG foram analisadas conjuntamente.

Tem sido demonstrado que na isquemia cerebral ocorre um aumento nos níveis séricos de S100B, o que pode se correlacionar com a extensão do dano cerebral e predizer o desfecho no curto prazo em pacientes com acidente vascular cerebral (Fagnart e cols., 1988). Nas pacientes com lupus eritematoso sistêmico os níveis séricos de S100B podem auxiliar no diagnóstico da atividade da doença, especialmente, nos casos em que há comprometimento do SNC (Portela e cols., 2002). No nosso estudo, a concentração da proteína S100B não se correlacionou de

forma significativa aos os demais parâmetros de gravidade utilizados na atualidade como cefaléia, alterações visuais, função hepática ou renal. Os desfechos fetais e maternos desfavoráveis são mais freqüentes nas pacientes com PEG em relação aquelas com PEL e podem ser semelhantes entre PEL e normotensas (Sibai e cols., 2005). No nosso estudo, a proteína S100B foi significativamente mais alta quando comparadas às demais, destacando-se como marcador de PEG. Novos estudos são necessários para determinar sua correlação com complicações maternas e fetais como descolamento prematuro de placenta, nascimento pré-termo, morte materna ou neonatal, entre outros. Um novo biomarcador sérico da PEG poderia auxiliar no manejo precoce de complicações visando minimizar a morbimortalidade fetal e materna.

Outras causas de produção de S100B que não envolvam dano vascular cerebral não podem ser completamente excluídas neste estudo. Evidências recentes sugerem que sítios extra-cerebrais , como o coração em isquemia, podem influenciar na concentração sérica de S100B (Mazzini e cols., 2005). Nenhuma de nossas pacientes tinha história de isquemia cardíaca.

A produção de S100B pelo feto pode ter seu papel nos presentes achados. A concentração da proteína é conhecidamente maior no sangue de cordão quando comparado ao sangue de adultos (Portela e cols., 2002). Os níveis séricos maternos foram mais altos em mães com fetos com crescimento intra-uterino restrito (CIUR) que desenvolveram hemorragia intraventricular após o nascimento e foi semelhante entre os controles e aqueles com CIUR que não desenvolveram hemorragia intraventricular (Gazollo e cols., 2006). Nas mães com feto portador da síndrome Down, a dosagem da S100B sérica materna não foi diferente dos controles sem a doença (Abraha e cols., 1999).

A eclampsia é definida como o desenvolvimento de convulsões durante a gestação ou no pós-parto, em pacientes com diagnóstico de PE. O mecanismo exato das convulsões eclâmpticas não está definido. Mecanismos sugeridos incluem

vasoespasmos cerebrais, encefalopatia hipertensiva, disrupção da auto-regulação circulatória cerebral, edema, micro-hemorragias e encefalopatia metabólica. Está claro que a PEG pode afetar diversos órgãos além do cérebro, incluindo o fígado, rins e coagulação sanguínea. Portanto, a eclâmpsia representa apenas uma das complicações da PEG (Karnad & Guntupalli, 2005; Sibai e cols., 2005). É difícil prever quais pacientes com PE irão desenvolver eclâmpsia. A cefaléia occipital ou frontal precede as convulsões em 50 a 75% das pacientes e 20 a 30% apresentam borramento visual ou cegueira cortical (Sibai e cols., 2005).

A medida periférica da proteína S100B parece ser um marcador sensível alternativo de dano celular no SNC quando a clínica e os exames radiológicos não mostram alterações. As vantagens da dosagem da proteína S100B como marcador periférico de dano cerebral em relação a outros exames são: simplicidade de medida, boa reprodutibilidade e marcador precoce quantitativo de dano ao SNC bem estabelecido (Petzold e cols., 2002; Micheti & Gazzolo, 2002; Schmidt e cols., 2004). A dosagem da S100B tem valor prognóstico em várias patologias e seu valor nos distúrbios hipertensivos da gestação necessita de estudos para sua confirmação.

Nossos achados confirmam evidência prévia (Schmidt e cols., 2004) da associação entre proteína S100B e distúrbios hipertensivos na gestação, especialmente na PEG. O uso de medidas da proteína S100B para prever gravidade relacionada às gestantes hipertensas pode ter um importante papel no manejo clínico desta condição.

Os achados deste estudo nos permitem concluir que a proteína S100B é um marcador de pré-eclâmpsia grave, podendo ser útil como ferramenta complementar na avaliação destas pacientes. Entretanto, estudos adicionais são necessários para determinar sua utilidade no acompanhamento ou na predição de desfechos desfavoráveis entre pacientes com pré-eclâmpsia grave e, em especial, de complicações neurológicas para as quais não possuímos indicadores clínicos ou radiológicos específicos de lesão cerebral.

Bibliografia

1. Ramos JGL, Martins-Costa S, Vettorazzi-Stuczynski & Brietzke E. Morte Materna em Hospital Terciário do Rio Grande do Sul – Brasil: um estudo de 20 anos. RBGO 2003, 25: 431-436.
2. Ministério da Saúde do Brasil. Pacto Nacional pela Redução da Mortalidade Materna e Neonatal. Versão aprovada na reunião da Comissão Intergestores – TRIPARTITE realizada em 18/03/04. [citado 2006 abril 22] Disponível em: <http://dtr2002.saude.gov.br/proesf/14-Material/Info/PactoAprovadoTripartite.pdf>
3. Ruthenford JM, Moody A, Crawshaw S, Rubin PC. Magnetic resonance spectroscopy in pre-eclampsia: evidence of cerebral ischaemia. BJOG 2003;110:416-23.
4. Dineen R, Banks A, Lenthall R. Imaging of acute neurological conditions in pregnancy and puerperium. Clinical Radiology 2005;60:1156-70.
5. Aagaard-Tillery KM, Belfort MA. Eclâmpsia: morbidity, mortality and management. Clinical Obstetric and Gynecology 2005;48(1):12-23.
6. Karnad DR and Guntupalli KK. Neurologic disorders in pregnancy. Crit Care Med 2005, 33(10):S362-75.
7. Fano G, Biocca S, Fulle S, Mariggio MA, Belia S, Calissamo P. The S100B: a protein family in search of a function. Progress in neurobiology 1995;46:71-82.
8. Portela LVC, Brenol JCT, Walz R, Bianchin M, Tort ABL, Canabarro UB, et al. Serum S100B Levels in Patients with Lupus Erythematosus: Preliminary Observation. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology 2002;9(1):164-6 .
9. Gazzolo D, Marinoni E, Di Iorio R, Lituania M, Bruschetti PL, Michetti F. Circulating S-100B protein is increased in intrauterine growth-retarded fetuses. Pediatr Res 2002;51(2):215-9.

10. Gazzolo D, Marinoni E, Di Lorio R, Bruschettoni PL, Kornacha M, Lituania M, et al. Urinary S100B protein measurements: a tool for the early identification of hypoxic–ischemic encephalopathy in asphyxiated full-term infants. *Crit Care Med* 2004;32(1):131-6.
11. Tort AB, Portela LV, Tavares MP, Goncalves CA, Netto C, Giugliani R, et al. Specificity and sensitivity of S100B levels in amniotic fluid for Down syndrome diagnosis. *Life Sci* 2004;76(4):379-84.
12. Netto CB, Portela LV, Felix TM, Souza DO, Goncalves CA, Giugliani R. Serum S100B levels in patients with neural tube defects. *Clinica Chimica Acta* 2006;364(1-2):275-8.
13. Schmidt AP, Portela LVC, Tort,ABL, Amaral OB, Schmidt AP, Vettorazzi-Stuckzynski J, et al. Serum S100B protein in pregnancy complicated by hypertensive disorders: a case-control study. *Clin Chem* 2004;50(2):435-8.
14. Working Group on High Blood Pressure In Pregnancy. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:S1–22.
15. Michetti F, Gazzolo D. S100B protein in biological fluids: a tool for perinatal medicine. *Clin Chem* 2002;48(12):2097-104.
16. Michetti F, Gazollo D. S100B in pregnancy. *Clinica Chimica Acta* 2003;335:1-7.
17. Smets EM, Visser A, Go AT, Van Vugt JM, Oudejans CB. Novel biomarkers in preeclampsia. *Clin Chim Acta* 2006;364(1-2):22-32.
18. Fagnart OC, Sindic CJM, Laterre C. Particle Counting immunoassay of S100 Protein in Serum. Possible relevance in tumors and ischemic disorders of the central nervous system. *Clin Chem* 1988;34(7):1387-91.
19. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005; 365:785-99.
20. Mazzini MS, Schaf DV, Oliveira AR, Gonçalves CA, Klein AB, Bordignon SB, et al. The ischemic rat heart releases S100B. *Life Sciences* 2005;77: 882–9.

21. Portela LV, Tort AB, Schaf DV, Ribeiro L, Nora DB, Walz R, et al. The serum S100B concentration is age dependent. *Clin Chem* 2002, 48(6):950-2.
22. Gazzolo D, Marinoni E, Di Lorio R, Lituania M, Marras M, Bruschetti M, et al. High Maternal Blood S100B Concentrations in Pregnancies Complicated by Intrauterine Growth Restriction and Intraventricular Hemorrhage. *Clin Chem* 2006; 52(5):819-26.
23. Abraha HD, Noble PL, Nicolaides KH, Sherwood RA. Maternal serum S100 protein in normal and Down syndrome pregnancies. *Prenat Diagn* 1999;19(4):334-6.
24. Petzold A, Green AJ, Keir G, Fairley S, Kitchen N, Smith M, et al. Role of serum S100B as an early predictor of high intracranial pressure and mortality in brain injury: a pilot study. *Crit care Med* 2002;30(12):2705-10.

ARTIGO ORIGINAL 1 EM INGLÊS

4. Artigo 1 em inglês

S100B Protein Serum Levels in Patients with Severe Preeclampsia

Janete Vettorazzi, Thiago Ávila, Sérgio H. Martins-Costa, Diogo Souza, Luís V.C.

Portela, Adriana P. Schmidt, José Geraldo Lopes Ramos.

Department of Gynecology and Obstetrics, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Department of Biochemistry (ICBS), Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

(✉) Janete Vettorazzi

Avenida Ramiro Barcelos, 2350/1125.

CEP 90035-003. Porto Alegre, RS, Brazil.

Phone/fax: (55-51) 21018117/30238585

E-mail: vsjanete@terra.com.br

Acknowledgements:

This study was supported by the following research agencies: FIPE/HCPA
CNPq/PRONEX (#41960904).

Condensation:

S100B protein serum levels in patients with severe preeclampsia are significantly
higher

Submit to *Clinical Chemistry*.

Abstract

Aim: The aim of this study was to measure S100B protein serum concentrations in pregnant women with severe preeclampsia. **Material and Methods:** Blood samples were collected from 29 patients with severe preeclampsia, 13 with mild preeclampsia and 16 normotensive pregnant. The S100B protein levels were measured by a commercially available immunoluminometric assay (Lia-mat Sangtec100[®] Medical, Bromma, Sweden). **Results:** We studied 58 expectant mothers with mean age of 26.7 (± 8.8) years and mean gestational age of 33.7 (± 4.1) weeks. Concentrations of S100B were significantly higher ($P = 0,002$) in women with severe preeclampsia (0.11 [0.05-0.22] $\mu\text{g/l}$) than in normotensive controls (0,02 [(0,003-0,08] $\mu\text{g/L}$). There were no significant differences in serum S100B in pregnant women with severe preeclampsia (0.11 [0.05-0.22] $\mu\text{g/l}$) or mild preeclampsia (0,06 [(0,01-0,12] $\mu\text{g/L}$). **Conclusions:** Serum S100B proteins levels are indeed a marker of severe preeclampsia. However, further studies are needed to determine its predictive value for the occurrence of severe complications of preeclampsia.

Keywords: pregnancy, hypertension, preeclampsia, serum marker, serum proteins, S100B protein

Introduction

Hypertensive disorders during pregnancy are the first cause of mortality in Brazil. Patients with severe preeclampsia account for most of the hypertension-related maternal deaths(1,2). Neurological complications occur in up to 10% of the cases of patients with hypertensive disorders during pregnancy and include hemorrhage, eclampsia, coma, loss of vision, aphasia, psychosis, cerebrovascular accidents, and others (3-5). A recent report (4) showed that among 14 gestational hypertension-related maternal deaths, 9 experienced intracranial hemorrhage. Up to now, clinical aspects and routine examinations cannot safely predict which patients will progress to more severe pictures and serious complications such as eclampsia, brain hemorrhage, and others (6).

The S100 protein is a calcium binder present in many tissues and is considered the most abundant specific brain protein. The S100B isoform is present at high concentrations in the central nervous system (CNS), where it comprises 80-90% of the total S100 and is located primarily in astrocytes and Schwann cells (7). S100B protein levels have been determined in several biological fluids such as cerebrospinal fluid, amniotic fluid, cord blood, and peripheral blood. Many studies suggest that the S100B protein is a general marker of damage or dysfunction in acute or chronic cerebral disorders and can be used as a marker of prognosis or neurological damage (9-12).

A recent study (13) detected elevated serum S100B levels in patients with eclampsia as compared with other patients with hypertensive disorders specific to pregnancy or normotensive controls. This appears to be the first study correlating S100B serum levels with gestational hypertensive disorders. So far there are no specific predictors of neurological gravity in preeclampsia (PE), which are crucial for decreasing the number of maternal deaths.

The aim of this study was to determine the S100B serum levels in patients with severe preeclampsia and their correlation with other parameters of gravity in preeclampsia.

Patients and Methods

The S100B protein was measured in pregnant women with severe preeclampsia (SPE), mild preeclampsia (MPE), and normal blood pressure in the in the obstetric emergency department of a tertiary hospital in southern Brazil - Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). The classification of hypertensive disorders followed the guidelines of the Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy (14).

This is a case-control study conducted with the approval of the Ethical Committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre and all patients provided written informed consent for participation.

Patients eligible for the study were pregnant women with more than 20 weeks of gestation who were admitted for medical evaluation or labor assistance. Exclusion criteria were present diagnosis or past history of neurologic disease, seizures related to other causes, and HIV infection. Obstetric examination was performed, and a questionnaire was obtained.

Venous blood samples were collected by venipuncture in an evacuated anticoagulant-free system and sent to the laboratory for centrifugation. Serum was separated from the clot and stored at $< 70^{\circ}\text{C}$ until analysis. S100B was measured by a commercially available immunoluminometric assay (Lia-mat Sangtec100[®] Medical, Bromma, Sweden). All samples were measured in duplicate and were analyzed in the same experiment.

SPSS (Ver 12.0) and EPI-INFO (Ver 6.0) were used for building the database and for the statistical analysis. S100B serum concentrations were described with median and interquartile range and quantitative variables were described with mean

and standard deviation (SD). Groups were compared using Kruskal Wallis's test, Mann-Whitney's test, ANOVA, Tukey test, and Student's *t*-test. Spearman's correlation coefficient was used for quantitative variables. The level of significance was set at $P < 0,05$.

Results

A total of 58 pregnant women with mean age of 26.7 ± 8.8 years were studied, of whom 13 had MPE, 29 had SPE and 16 were normotensive. Table 1 shows the main clinical and epidemiological characteristics of the patients. The mean gestational age was 33.7 ± 4.1 weeks and was similar in the normotensive and SPE groups (33.4×32.5 weeks, respectively). Diastolic and systolic blood pressures were significantly lower in the normotensive group, and severe preeclamptic patients presented significantly higher pressure levels ($P < 0.01$). Among the SPE patients, 6 (19.3%) presented the HELLP syndrome at the time of blood sampling and 2 progressed to eclampsia. Apgar score at 5 minutes and gestational age at birth were significantly lower in patients with SPE.

Serum S100B levels in patients with severe preeclampsia ($0.11 [0.05-0.22]$ $\mu\text{g/L}$) were significantly higher ($P = 0,002$) than in normotensive patients ($0.02 [(0.003-0.08]$ $\mu\text{g/L}$) and were not different ($P = 0.1$) from those with MPE ($0.06 [0.01- 0.12]$ $\mu\text{g/L}$) (Figure 1).

The maternal serum S100B in the patients with HELLP syndrome ($0.12 [0.06-0.37]$ $\mu\text{g/L}$) were similar to those of severe preeclampsia ($0.11 [0.05-0.22]$ $\mu\text{g/L}$).

Among patients with SPE, 62.1% presented warning signs of eclampsia at some moment of their hospitalization, only 27.6% remained with these signs at the time of sampling, and 34,5% had a hypertensive acute crisis which demanded drug therapy at the day of sampling. Headache was the most frequent sign in this series and was

present in 66.6% of the patients. Serum S100B levels were not different between the patients who had shown or were with warning signs at the time of sampling ($P = 0.4$ and 0.8). Neither the chronic use of antihypertensive drugs nor hypertensive crises were correlated ($P = 0.35$) with serum S100B levels. The use of corticosteroid for fetal pulmonary maturity did not affect the S100B concentration ($P = 0.35$).

Among patients with SPE, serum S100B levels did not vary significantly ($p = 0.4$) across the different gestational ages. There was no correlation of S100B and other laboratory parameters of gravity such as platelet counts, 24h proteinuria, liver and kidney function tests, or pressure levels.

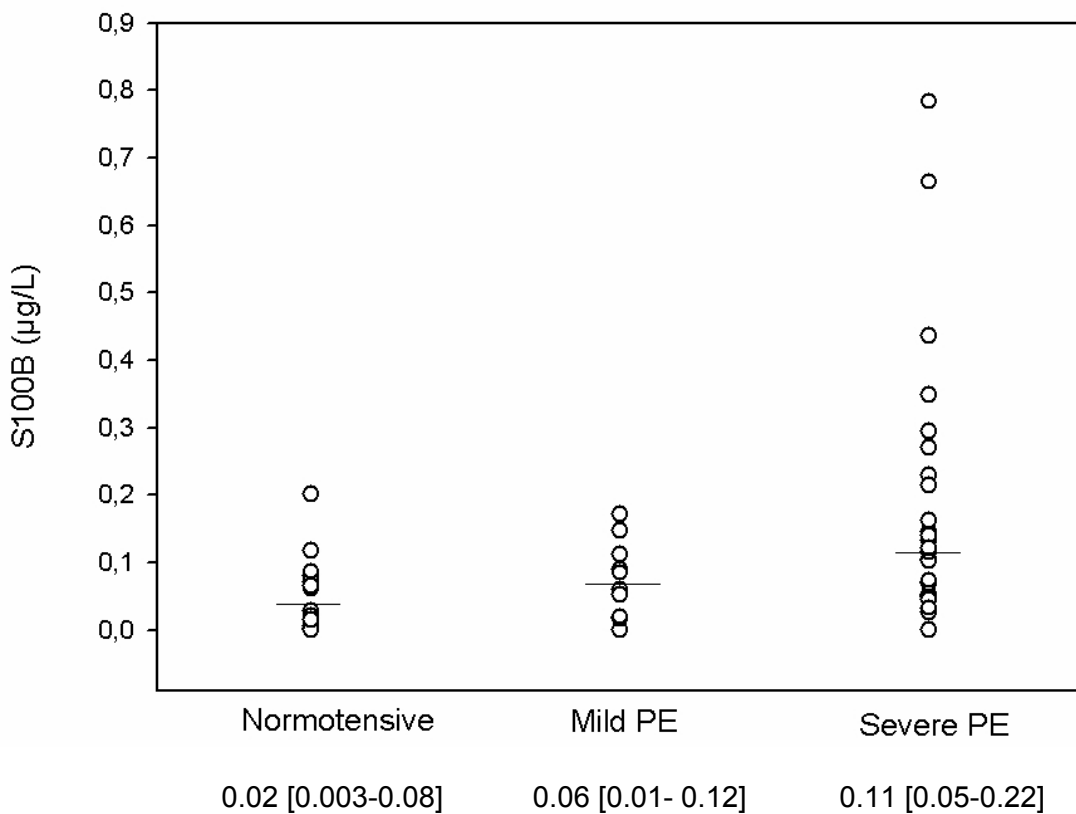


Figure 1. Distribution of S100B serum levels in normotensive, mild and severe preeclamptic (PE) pregnant women. Median [intrequare range]. Tukey Test. (severe PE vs. normotensive: $P = 0.02$; severe PE vs. mild PE: $P = 0.1$; mild PE vs. normotensive: $P = 0,46$).

Table 1. Clinical characteristics of patients and controls.

	Normotensive	Mild preeclampsia	Severe preeclampsia	P
n	16	13	29	
Age, years	24,4± 6,9	25,9 ±10,3	28,1±8,9	>0,05
No. of previous pregnancies	3,4±2	2,8±1,8	2,1±1,5	0,9
Gestacional age (weeks)	33,4±4,9	36,7±2,7	32,5±3,7	0,07
Birth weight (g)	2495±886	2980 ±589	1791 ^b ±824	< 0,001
Apgar score (5° min)	9 ±1,1	9,3 ±0,6	8,2 ^b ±1,8	0,03
SBP (mm Hg)	111,2±9,5	139,5±18,05	156,1 ^c ±16,7	0,006
DBP (mm Hg)	69,5±8,8	89,4±8,6	99,3 ^c ±10,9	0,01

Variables appear as mean ± standart deviation (SD); Statitical: ANOVA and Tukey test
 PE= preeclampsia; SBP/DBP= systolic/diastolic blood pressure
 a = significantly higher in normotensive.
 b = significantly lower among severe preeclampsia than in the others
 c = significantly higher than in the others groups

Discussion

S100B protein is expressed and largely released by astrocytes, and its neurotrophic and gliotrophic action has been associated with the development and maintenance of the central nervous system. Thus, increased levels of S100B in the cerebrospinal fluid or serum may indicate astrocyte activation or blood-brain barrier dysfunction, which has encouraged its investigation as a marker of CNS damage in acute or chronic diseases, including brain hemorrhage and ischemia, multiple sclerosis, Alzheimer's disease, and schizophrenia (6,15,16).

The increase in S100B may be secondary to traumatic and/or degenerative alterations to the CNS, and perfusional changes, edema and ischemia may be present (7). Vessel spasm and ischemia or edema cerebral are presented in preeclampsia (17). Therefore, the increase in S100B observed in the present study may actually precede the occurrence of seizures or other neurological manifestations in the patients with severe preeclampsia, since in a previous study¹³ S100B serum levels were significantly higher in eclamptic patients than in other pregnancies women with or without high blood pressure. However, in such study patients with MPE and SPE were considered jointly.

It has been shown that during brain ischemia there is an increase in serum S100B levels, which may be correlated with the extent of brain damage and predict the short term outcome in patients with cerebral vascular accident (18). In patients with systemic lupus erythematosus, serum S100B levels may aid in the diagnosis of disease activity, particularly in cases with CNS commitment (8). In our study, the concentration of S100B was not significantly correlated with the other parameters of severity currently used such as headache, visual alterations, and liver or kidney function. Unfavorable fetal and maternal outcomes are more frequent in patients with SPE than in those with MPE and may be similar between the later and normotensive ones (19). In our study, the S100B

protein was significantly higher than the others groups, standing out as a marker of SPE. Further studies are needed to determine its correlation with maternal and fetal complications such as placental abruption, preterm birth, maternal or neonatal death, among others. A new serum marker of SPE could aid in the early management of complications in order to minimize fetal and maternal morbidity and mortality.

Other causes of S100B production not involving brain vascular damage cannot be ruled out altogether in this study. Recent evidence suggests that sites other than the brain, such as an ischemic heart, may affect S100B serum levels (20). None of our patients had a history of heart ischemia though.

The production of S100B by the fetus may play a role in the present findings. The concentration of protein is known to be higher in cord blood than in adult blood (21). Maternal serum levels were higher in mothers with fetuses with RIUG who developed intraventricular hemorrhage after birth, and were similar between controls and those with IUGR who did not develop intraventricular hemorrhage (22). Among mothers with a fetus with Down Syndrome, maternal S100B serum levels were not different from those of controls without the disorder (23).

Eclampsia is defined as the development of seizures during gestation or in the postpartum period in patients with a diagnosis of PE. The precise mechanism of eclamptic seizures is not well-established. Suggested mechanisms include brain blood vessel spasm, hypertensive encephalopathy, disruption of brain circulatory self-regulation, edema, microhemorrhages, and metabolic encephalopathy. It is clear that SPE can affect a number of organs in addition to the brain, including the liver and kidneys, as well as blood coagulation. Therefore, eclampsia stands as only one of the complications of SPE (6,19). It is difficult to predict which patients with PE will actually develop eclampsia. Occipital or frontal headache precedes seizures in 50-75% of patients, and 20-30% present visual blurring or cortical blindness (19).

Peripheral measurement of the S100B protein appears to be an alternative sensitive marker of CNS cell damage when clinical and radiological examinations do not show alterations. The advantages of S100B protein determination as a peripheral marker of brain damage over other tests are: simplicity of measurement, good replication, and well-established early quantitative marker of CNS damage (13, 15, 24). S100B determination has a prognostic value in several pathologies and studies are needed to confirm its value in the hypertensive disorders of gestation.

Our findings confirm previous evidence (13) of an association of S100B protein and gestational hypertensive disorders, especially in SPE. The use of S100B protein measures to predict severity related to hypertensive expecting mothers may play an important role in the clinical management of this condition.

The findings of the present study allow us to conclude that the S100B protein is an effective marker of severe preeclampsia, and may be useful as a complementary tool in the evaluation of these patients. However, further studies are needed to determine its usefulness in the follow-up or prediction of unfavorable outcomes among patients with severe eclampsia and, particularly, of neurological complications for which as yet there are no specific clinical or radiological indicators of brain lesion.

References:

1. Ramos JGL, Martins-Costa SH, Vettorazzi-Stuczynski & Brietzke E. [Maternal mortality in a tertiary hospital in Rio Grande do Sul - Brazil: twenty year study]. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* 2003;25:431-6.
2. Ministério da Saúde do Brasil. Pacto Nacional pela Redução da Mortalidade Materna e Neonatal. Versão aprovada na reunião da Comissão Intergestores – TRIPARTITE realizada em 18/03/04. [citado 2006 abril 22] Disponível em: <http://dtr2002.saude.gov.br/proesf/14-Material/Info/PactoAprovadoTripartite.pdf>
3. Ruthenford JM, Moody A, Crawshaw S, Rubin PC. Magnetic resonance spectroscopy in pre-eclampsia: evidence of cerebral ischaemia. *BJOG* 2003;110:416-23.
4. Dineen R, Banks A, Lenthall R. Imaging of acute neurological conditions in pregnancy and puerperium. *Clinical Radiology* 2005;60:1156-70.
5. Aagaard-Tillery KM, Belfort MA. Eclâmpsia: morbidity, mortality and management. *Clinical Obstetric and Gynecology* 2005;48(1):12-23.
6. Karnad DR and Guntupalli KK. Neurologic disorders in pregnancy. *Crit Care Med* 2005, 33(10):S362-75.
7. Fano G, Biocca S, Fulle S, Mariggio MA, Belia S, Calissano P. The S100B: a protein family in search of a function. *Progress in neurobiology* 1995;46:71-82.
8. Portela LVC, Brenol JCT, Walz R, Bianchin M, Tort ABL, Canabarro UB, et al. Serum S100B Levels in Patients with Lupus Erythematosus: Preliminary Observation. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2002;9(1):164-6 .

9. Gazzolo D, Marinoni E, Di Lorio R, Lituania M, Bruschetti PL, Michetti F. Circulating S-100B protein is increased in intrauterine growth-retarded fetuses. *Pediatr Res* 2002;51(2):215-9.
10. Gazzolo D, Marinoni E, Di Lorio R, Bruschetti PL, Kornacha M, Lituania M, et al. Urinary S100B protein measurements: a tool for the early identification of hypoxic–ischemic encephalopathy in asphyxiated full-term infants. *Crit Care Med* 2004;32(1):131-6.
11. Tort AB, Portela LV, Tavares MP, Goncalves CA, Netto C, Giugliani R, et al. Specificity and sensitivity of S100B levels in amniotic fluid for Down syndrome diagnosis. *Life Sci* 2004;76(4):379-84.
12. Netto CB, Portela LV, Felix TM, Souza DO, Goncalves CA, Giugliani R. Serum S100B levels in patients with neural tube defects. *Clinica Chimica Acta* 2006;364(1-2):275-8.
13. Schmidt AP, Portela LVC, Tort,ABL, Amaral OB, Schmidt AP, Vettorazzi-Stuckzynski J, et al. Serum S100B protein in pregnancy complicated by hypertensive disorders: a case-control study. *Clin Chem*. 2004;50(2):435-8.
14. Working Group on High Blood Pressure In Pregnancy. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;183:S1–22.
15. Michetti F, Gazzolo D. S100B protein in biological fluids: a tool for perinatal medicine. *Clin Chem* 2002;48(12):2097-104.
16. Michetti F, Gazollo D. S100B in pregnancy. *Clinica Chimica Acta* . 2003;335:1-7.
17. Smets EM, Visser A, Go AT, Van Vugt JM, Oudejans CB. Novel biomarkers in preeclampsia. *Clin Chim Acta* 2006;364(1-2):22-32.

18. Fagnart OC, Sindic CJM, Laterre C. Particle Counting immunoassay of S100 Protein in Serum. Possible relevance in tumors and ischemic disorders of the central nervous system. *Clin Chem* 1988;34(7):1387-91.
19. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005; 365:785-799.
20. Mazzini MS, Schaf DV, Oliveira AR, Gonçalves CA, Klein AB, Bordignon SB, et al. The ischemic rat heart releases S100B. *Life Sciences* 2005;77: 882–9.
21. Portela LV, Tort AB, Schaf DV, Ribeiro L, Nora DB, Walz R, et al. The serum S100B concentration is age dependent. *Clin Chem* 2002, 48(6):950-2.
22. Gazzolo D, Marinoni E, Di Lorio R, Lituania M, Marras M, Bruschetti M, et al. High Maternal Blood S100B Concentrations in Pregnancies Complicated by Intrauterine Growth Restriction and Intraventricular Hemorrhage. *Clin Chem* 2006; 52(5):819-26.
23. Abraha HD, Noble PL, Nicolaidis KH, Sherwood RA. Maternal serum S100 protein in normal and Down syndrome pregnancies. *Prenat Diagn* 1999;19(4):334-6.
24. Petzold A, Green AJ, Keir G, Fairley S, Kitchen N, Smith M, et al. Role of serum S100B as an early predictor of high intracranial pressure and mortality in brain injury: a pilot study. *Crit care Med* 2002;30(12):2705-10.

ARTIGO ORIGINAL 2 EM PORTUGUÊS

5. Artigo original 2 em português

Dosagem sérica de S100B pacientes com distúrbios hipertensivos da gestação: estudo de caso controle

Adriana P. Schmidt¹, Adriano B.L. Tort², Olavo B. Amaral², André P. Schmidt², Roger Walz³, Janete Vettorazzi-Stuckzynski¹, Sérgio H. Martins- Costa¹, José Geraldo L. Ramos¹, Diogo O. Souza² e Luis V.C. Portela^{*2}

1. Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil;

2. Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil;

3 Centro de Cirurgia de Epilepsia, Hospital de Clínicas, Departamento de Neurologia, Psiquiatria e Psicologia Médica, Universidade de São Paulo, SP, Brasil;

* Endereço para correspondência:

Departamento de Bioquímica, ICBS

Universidade Federal do Rio Grande do Sul,

Avenida Ramiro Barcelos, 2600-Anexo, CEP 90035-003,

Porto Alegre, RS, Brazil;

Fax: 55-51-33165540 ou 55-51-33165535,

E-mail roska@ufrgs.br

Publicado no *Clinical Chemistry* 2004; 50 (2): 435-438.

Introdução

A eclâmpsia é definida como a ocorrência de convulsões e/ou coma em consequência a encefalopatia hipertensiva em pacientes com pré-eclâmpsia (NHBPEP, 2000). Pode ser causada por falência na auto-regulação cerebral em resposta ao aumento da pressão arterial com aumento da pressão de perfusão cerebral, ocorrendo nas pacientes com encefalopatia hipertensiva (Belfort e cols., 2002; Williams e cols., 2003). Edema e hemorragia cerebral são observados nos estudos de imagem destas pacientes (Naidu e cols., 1997; Schwartz e cols., 2000). Existem evidências sugerindo que estas alterações levem a isquemia das células cerebrais, sendo a base dos sintomas neurológicos (Belfort e cols., 1999) que incluem convulsões, cegueira cortical, afasia, psicose, coma e acidentes cerebrovasculares. Os estudos têm analisado vários métodos diagnósticos, como a mensuração com Doppler transcranial com objetivo de avaliar o envolvimento neurológico na pré-eclâmpsia (Williams e cols., 2003; Belfort e cols, 1999). Até o momento não dispomos de um marcador laboratorial para identificar pacientes de risco para eclâmpsia ou complicações relacionadas.

S100B é uma proteína 21-kDa produzida fisiologicamente e secretada primariamente pelos astrócitos no sistema nervoso central (SNC), com ação neuro e gliotrófica. Sabendo-se que 95% da proteína S100B está localizada no SNC, vários estudos têm sugerido que o aumento da S100B no sangue e no líquido pode ser um marcador potencial de lesão neural, indicando gliose, morte de astrócitos e/ou disfunção da barreira hematoencefálica. O aumento da concentração no líquido e/ou no sangue tem sido relatados em várias condições patológicas causadas por trauma agudo ou crônico como trauma crânio –encefálico, acidente vascular cerebral, esquizofrenia e mielopatias por HTLV-1 (Ingebrigtsen e cols., 1999; Wuderlich e cols., 1999; Lara e cols., 2001; Walz e cols., 2000).

Os estudos também avaliaram a proteína S100B como um marcador de convulsão recente. Embora a S100B tenha sido relatada como aumentada nos tecidos e no líquido cerebral de pacientes com epilepsia temporal (Griffin e cols., 1995; Steinhoff e cols., 1999), estudos com dosagem sérica de S100B foram falhos em demonstrar o seu aumento no sangue após convulsões (Buttner e cols., 1999; Plamio e cols., 2001; Leutmezer e cols., 2002). O aumento da S100B pode ser um indicador de aumento da pressão intracraniana (Petzold e cols., 2002) e da hipertensão relacionada aos danos causados por um desvio cardiopulmonar (Schmidt e cols., 2001). No entanto, na fisiopatologia da convulsão por eclâmpsia, ocorre dano e isquemia celular do SNC, sendo possível que o aumento da S100B também possa ser observado nesta situação, antes mesmo da ocorrência da convulsão.

Métodos

Realizamos um estudo de caso-controle entre os anos de 2000 e 2002 no Centro Obstétrico (CO) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) - hospital terciário do sul do Brasil. A dosagem sérica da proteína S100B foi realizada em gestantes com eclâmpsia, pré-eclâmpsia, hipertensas crônicas e normotensas. O objetivo foi determinar se a concentração sérica de S100B pode ser um indicador do envolvimento neurológico nas gestantes com distúrbios hipertensivos. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA (número 98-110) e o consentimento informado livre e esclarecido foi aplicado a todas as pacientes. Foram elegíveis para o estudo gestantes admitidas para avaliação ou em trabalho de parto no CO com idade gestacional maior que 20 semanas. Os critérios de exclusão foram: doença neurológica prévia, disfunção renal já conhecida, convulsão por outras causas, infecção pelo vírus HIV ou microangiopatias. O exame obstétrico foi realizado pela equipe assistente da paciente e após o diagnóstico

foi aplicado o questionário padrão com dados referentes à gestação atual, passado obstétrico, e história médica pregressa. A pressão arterial foi medida conforme a rotina de atendimento e a classificação dos distúrbios hipertensivos realizada conforme o consenso de 2000 (NHPEP, 2000). Segundo este consenso podemos classificar as pacientes em:

- a. Normotensas: a pressão arterial é normal quando a pressão arterial sistólica (PAS) for menor que 140 mmHg e a diastólica (PAD) menor que 90 mmHg;
- b. Pré-eclâmpsia: se a PAS \geq 140 mmHg e/ou PAD \geq 90 mmHg com proteinúria significativa;
- c. Hipertensão crônica: se a PAS \geq 140 mmHg e/ou PAD \geq 90 mmHg em pacientes com hipertensão antes da 20^a. semana de gestação e sem proteinúria significativa;
- d. Eclâmpsia: pacientes com critério de PE e com convulsões generalizadas.

As pacientes com PE sobreposta a Hipertensão crônica e sem critérios suficientes para estabelecer o diagnóstico não foram incluídas no estudo.

As amostras de sangue venoso (5ml) foram coletadas após a admissão da paciente com frasco a vácuo e sem anticoagulante e após centrifugado no laboratório. O soro foi armazenado a -70° C até a análise. A mensuração da proteína S100B foi através do Kit comercial imunoluminométrico (Sangtec 100®) já descrito anteriormente (20). Todas as amostras foram analisadas em duplicata no mesmo experimento.

Os resultados foram expressos através da média e desvio padrão. A análise estatística foi realizada através do SPSS. As variáveis quantitativas, incluindo a S100B foram comparadas através do ANOVA. . As variáveis qualitativas foram comparadas através do teste de Fischer com valor p de 0,05 considerado como significativo.

Resultados

Foram estudadas 55 pacientes classificadas nos diferentes grupos e suas características epidemiológicas estão descritas na Tabela 1. As pacientes do grupo de hipertensas crônicas são mais velhas e possuem um número maior de gestações prévias em relação aos demais grupos. A PAS e PAD foram estatisticamente menores no grupo de normotensas quando comparadas aos demais grupos. Nenhuma das pacientes alocadas no grupo de preeclampsia, hipertensão crônica e normotensas desenvolveram convulsões durante a internação hospitalar.

Na Figura 1 podemos observar que não ocorreu diferença significativa na concentração sérica de S100B entre as mulheres com hipertensão crônica (0,186 (0,12) $\mu\text{g/L}$), pré-eclâmpsia (0,185 (0,12) $\mu\text{g/L}$) e normotensas (0,147 (0,07) $\mu\text{g/L}$). Entretanto a concentração sérica de S100B foi significativamente maior em pacientes com eclâmpsia (0,424 (0,194) $\mu\text{g/L}$) quando comparada aos demais grupos ($p < 0,05$).

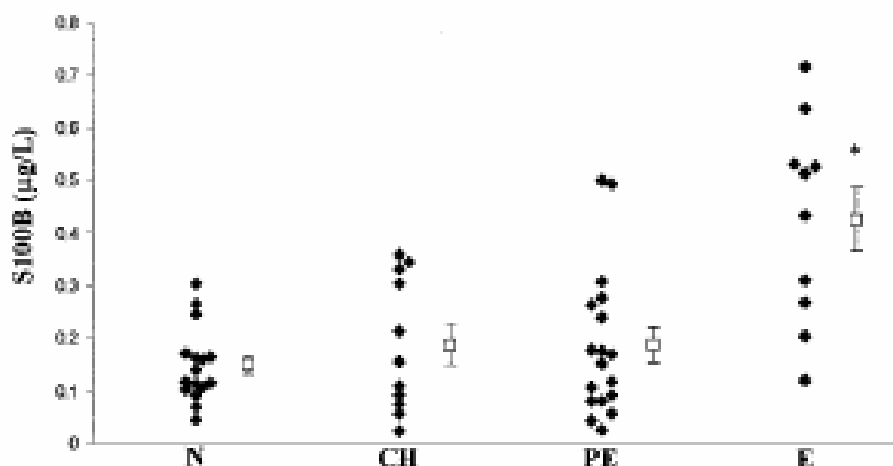


Figura 1. Comparação entre os níveis séricos nos 4 grupos de gestantes (*Scatter plot*).

N= normotensas; CH=hipertensão crônica; PE=pré-eclâmpsia;
E= eclâmpsia.

$P < 0,05$ na comparação entre todo grupos.
As barras indicam a média e desvio padrão

Tabela 1. Características epidemiológicas das pacientes e controles.

	Normotensas	Hipertensão crônica	Pré-eclâmpsia	Eclâmpsia
n	16	11	18	10
Idade (anos)				
Média ± DP	21,8±4,8	32,4±7,2	24,8±6,2	19,6±6,9
Raça (%)				
Branca	69	82	83	80
Preta	25	18	17	20
Fumante (%)				
Sim	31	36	33	40
Não	69	64	67	60
História familiar de PE (%)				
Sim	31	36	33	40
Não	69	64	67	60
PE previamente (%)				
Sim	0	0	28	10
Não	100	100	72	90
Número de gestações prévias (média ± DP)	2,3 1,4	4,9 3,5	2,0 1,6	1,2 0,4
Idade gestacional (semanas) (média ± DP)	34,6±6,4	36,8±1,9	34,7±4,1	33,5±3,9
PAS/PAD (mm Hg) (média ± DP)	109,3/67,9 ±14,4/9,8	157,8/98,9 ±26,4/12,7	146,2/93,8 ±14,5/12,6	160/102,2 ±18/18,6

^a significativamente diferente de pré-eclâmpsia (PE), eclâmpsia e normotensas (p<0,05)

^b significativamente diferente de eclâmpsia, hipertensas crônica e normotensas (p<0,05)

^c Pressão arterial na admissão sistólica (PAS) e diastólica (PAD)

^d significativamente diferente de hipertensão crônica, PE e eclâmpsia (p<0,05)

DP = desvio padrão

Discussão

Até o momento, este foi o primeiro estudo que correlacionou o nível sérico de S100B aos distúrbios hipertensivos da gestação. Nossos resultados demonstraram que a concentração sérica de S100B esta aumentada em gestante com eclampsia e não foi diferente entre gestantes com hipertensão crônica e pré-eclâmpsia e comparadas às normotensas. Vários eventos celulares podem estar associados às alterações do SNC que ocorrem na eclampsia e podem justificar os achados atuais. O aumento da S100B pode ser secundário a alterações vasculares cerebrais que determinam modificações perfusionais, edema e isquemia (Belfort e cols., 2002; Naidu e cols., 1997; Rutherford e cols., 2003), assim como convulsões. Entretanto, parece improvável que as convulsões per se sejam responsáveis pelo aumento na concentração sérica de S100B, uma vez que estudos em pacientes epiléticos não encontraram nenhum aumento da mesma (Buttner e cols., 1999; Plamio e cols., 2001; Leutmezer e cols., 2002). Portanto, é possível que os aumentos de S100B observados neste estudo possam, na verdade, preceder a ocorrência de convulsões ou outras manifestações neurológicas na eclampsia.

Outras causas de produção de S100B que não envolvam dano vascular cerebral não podem ser completamente excluídas pelo nosso estudo. Evidências recentes sugerem que sítios extracerebrais podem influenciar na concentração sérica de S100B (Missler e cols., 2002), mesmo que de forma menos significativa. Da mesma forma, a produção de S100B pelo feto pode ter seu papel nos presentes achados, uma vez que a concentração da proteína é conhecidamente maior no sangue de cordão quando comparado ao sangue em adultos (Gazzolo e cols., 2000; Gazzolo e cols., 2002).

Os critérios diagnósticos atuais de eclampsia iminente são baseados na avaliação clínica de pacientes com pré-eclâmpsia, com atenção aos sintomas neurológicos como cefaléia e alterações visuais. A medida periférica de proteínas como S100B, no entanto, parece indicar um marcador sensível alternativo de dano celular no SNC quando clínica e

exames radiológicos não mostram alterações. S100B parece satisfazer vários critérios como marcador periférico de dano cerebral, como: a) simplicidade de medida e boa reprodutibilidade; b) detecção em vários fluidos biológicos; c) possibilidade de monitorização longitudinal pela sua pequena meia-vida e d) marcador precoce quantitativo de dano ao SNC bem estabelecido. S100B também pode oferecer a vantagem adicional de fornecer uma indicação quantitativa da extensão das lesões cerebrais em várias doenças (Wunderlich e cols., 1999; Lara e cols., 2001; Griffin e cols., 1995; Steinhoff e cols., 1999), e vários estudos anteriores demonstraram valor prognóstico em diversas condições, incluindo trauma craniano, isquemia e parada cardíaca (Ingebrigtsen e cols., 1999; Wunderlich e cols., 1999; Petzold e cols., 2002; Martens e cols., 1998).

Apesar da amostra ser restrita, nossos achados demonstram evidência preliminar de que o aumento de S100B se associa à eclâmpsia. Mais estudos com amostras maiores são necessários para determinar o quanto estes valores podem ser utilizados para prever o desenvolvimento de eclâmpsia antes das manifestações clínicas. Se este for o caso, o uso de medidas de S100B para prever envolvimento do SNC na hipertensão relacionada à gestação pode ter um importante papel no manejo clínico desta condição.

Esta pesquisa conta com o apoio de Agências nacionais de apoio à pesquisa: Conselho Nacional de Pesquisa/Programa Nacional de Excelência (n° 41960904), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior; Pró-reitoria de Pesquisa/Universidade Federal do Rio Grande do Sul; e Fundação de Incentivo à Pesquisa e Eventos/ Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Bibliografia:

1. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:S1–22.
2. Belfort MA, Varner MW, Dizon-Townson DS, Grunewald C, Nisell H. Cerebral perfusion pressure, and not cerebral blood flow, may be the critical determinant of intracranial injury in preeclampsia: a new hypothesis. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:626–34.
3. Williams K, Galerneau F. Maternal transcranial Doppler in pre-eclampsia and eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003;21:507–13.
4. Naidu K, Moodley J, Corr P, Hoffmann M. Single photon emission and cerebral computerised tomographic scan and transcranial Doppler sonographic findings in eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1997;104:1165–72.
5. Schwartz RB, Feske SK, Polak JF, DeGirolami U, Iaia A, Beckner KM, et al. Preeclampsia-eclampsia: clinical and neuroradiographic correlates and insights into the pathogenesis of hypertensive encephalopathy. *Radiology* 2000;217:371–6.
6. Rutherford JM, Moody A, Crawshaw S, Rubin PC. Magnetic resonance spectroscopy in pre-eclampsia: evidence of cerebral ischaemia. *BJOG* 2003;110:416–23.
7. Belfort MA, Anthony J, Saade GR. Prevention of eclampsia. *Semin Perinatol* 1999;23:65–78.
8. Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol* 2001;33:637–68.
9. Ingebrigtsen T, Waterloo K, Jacobsen EA, Langbakk B, Romner B. Traumatic brain damage in minor head injury: relation of serum S-100 protein measurements to magnetic resonance imaging and neurobehavioral outcome. *Neurosurgery* 1999;45:468–75.

10. Wunderlich MT, Ebert AD, Kratz T, Goertler M, Jost S, Herrmann M. Early neurobehavioral outcome after stroke is related to release of neurobiochemical markers of brain damage. *Stroke* 1999;30:1190–5.
11. Lara DR, Gama CS, Belmonte-de-Abreu P, Portela LV, Gonçalves CA, Fonseca M et al. Increased serum S100B protein in schizophrenia: a study in medication-free patients. *J Psychiatr Res* 2001;35:11–4.
12. Walz R, Portela LV, Tort AB, Neto EC, Fernandes LN, Gonçalves CA, et al. Serum S100B levels in patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Neurology* 2000;54:2021–2.
13. Griffin WS, Yeralan O, Sheng JG, Boop FA, Mrak RE, Rovnaghi CR, et al. Overexpression of neurotrophic cytokine S100B in human temporal lobe epilepsy. *J Neurochem* 1995;65:228–33.
14. Steinhoff BF, Tumani H, Otto M, Mursch K, Wiltfang J, Herrendorf G, et al. Cisternal S100 protein and neuron-specific enolase are elevated and site-specific markers in intractable temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 1999;36:75–82.
15. Buttner T, Lack B, Jager M, Wunsche W, Kuhn W, Muller T, et al. Serum levels of neuron-specific enolase and S-100 protein after single tonic-clonic seizures. *J Neurol* 1999;246:459–61.
16. Palmio J, Peltola J, Vuorinen P, Laine S, Suhonen J, Keraänen T. Normal CSF neuron-specific enolase and S-100 protein levels in patients with recent non-complicated tonic-clonic seizures. *J Neurol Sci* 2001;183:27–31.
17. Leutmezer F, Wagner O, Baumgartner C. Serum S-100 protein is not a suitable seizure marker in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2002;43:1172–4.
18. Petzold A, Green AJ, Keir G, Fairley S, Kitchen N, Smith M, et al. Role of serum S100B as an early predictor of high intracranial pressure and mortality in brain injury: a pilot study. *Crit Care Med* 2002;30:2705–10.

19. Schmidt M, Scheunert T, Steinbach G, Schirmer U, Marx T, Freitag N, et al. Hypertension as a risk factor for cerebral injury during cardiopulmonary bypass. Protein S100B and transcranial Doppler findings. *Anaesthesia* 2001;56:733–8.
20. Portela LV, Tort AB, Schaf DV, Ribeiro L, Nora DB, Walz R, et al. The serum S100B concentration is age dependent. *Clin Chem* 2002;48:950–2.
21. Missler U, Orłowski N, Notzold A, Dibbelt L, Steinmeier E, Wiesmann M. Early elevation of S-100B protein in blood after cardiac surgery is not a predictor of ischemic cerebral injury. *Clin Chim Acta* 2002;321:29–33.
22. Gazzolo D, Vinesi P, Marinoni E, Di Iorio R, Marras M, Lituania M, et al. S100B protein concentrations in cord blood: correlations with gestational age in term and preterm deliveries. *Clin Chem* 2000;46:998–1000.
23. Gazzolo D, Marinoni E, Di Iorio R, Lituania M, Bruschetti PL, Michetti F. Circulating S100_ protein is increased in intrauterine growth-retarded fetuses. *Pediatr Res* 2002;51:215–9.
24. Martens P, Raabe A, Johnsson P. Serum S-100 and neuron-specific enolase for prediction of regaining consciousness after global cerebral ischemia. *Stroke* 1998;29:2363–6.

ARTIGO ORIGINAL 2 EM INGLÊS

6. Artigo original 2 em inglês

Serum S100B in Pregnancy-Related Hypertensive Disorders: A Case–Control Study

Adriana P. Schmidt¹, Adriano B.L. Tort², Olavo B. Amaral², André P. Schmidt², Roger Walz³, Janete Vettorazzi-Stuckzynski¹, Sérgio H. Martins- Costa¹, José Geraldo L. Ramos¹, Diogo O. Souza² and Luis V.C. Portela^{2*}

1. Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil;

2. Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil;

3. Centro de Cirurgia de Epilepsia, Hospital de Clínicas, Departamento de Neurologia, Psiquiatria e Psicologia Médica, Universidade de São Paulo, SP, Brazil;

Address correspondence:

Departamento de Bioquímica, ICBS,

Universidade Federal do Rio Grande do Sul,

Avenida Ramiro Barcelos, 2600-Anexo, CEP 90035-003,

Porto Alegre, RS, Brazil;

Fax: 55-51-33165540 or 55-51-33165535,

E-mail: roska@ufrgs.br

Clinical Chemistry 2004; 50(2): 435-8

Introduction

Eclampsia is defined as the occurrence of seizures and/or coma resulting from hypertensive encephalopathy on a background of preeclampsia (1). Eclampsia appears to be caused by a failure of the brain's auto regulatory response to increases in blood pressure, leading to an increase in cerebral perfusion pressure with overperfusion injury similar to that observed in hypertensive encephalopathy (2, 3). Brain edema and hemorrhage ensue, as observed in imaging studies (4, 5), and there is evidence to suggest that these alterations can cause ischemia to brain cells. These events lead to neurologic symptoms (6), including seizures as well as cortical blindness, aphasia, limb weakness, psychosis, coma, and cerebrovascular accidents. Studies have analyzed various diagnostic methods, such as transcranial Doppler measurements, as a way to evaluate neurologic involvement in preeclampsia (3, 7). To date, however, there is no reliable laboratory marker to identify patients at risk for eclampsia or its related complications.

S100B is a 21-kDa protein physiologically produced and released primarily by astrocytes in the central nervous system (CNS), where it exerts neurotrophic and gliotrophic actions (8). Because ~ 95% of S100B is located in the CNS, the results of several studies have suggested that an increase in S100B in blood and cerebrospinal fluid could be a potential marker of neural injury, indicating reactive gliosis, astrocytic death, and/or blood–brain barrier dysfunction. Accordingly, increased S100B concentrations in cerebrospinal fluid and/or blood have been reported in several pathologic conditions causing acute and chronic brain injury, such as head trauma (9), stroke (10), schizophrenia (11), and human T-lymphotropic virus type 1-associated myelopathy (12).

Some studies have also evaluated S100B as a marker of recent seizures. Although S100B has been shown to be increased in both cerebrospinal fluid and brain tissue of

patients with temporal lobe epilepsy (13, 14), studies in which serum S100B was measured have failed to show an increase after seizures (15–17). Nevertheless, taking into account that the pathophysiology of seizures in eclampsia involves ischemic damage to cells in the CNS, as well as the fact that increased S100B seems to be an indicator of increased intracranial blood pressure (18) and of hypertension-related injury during cardiopulmonary bypass (19), it is feasible that an increase in S100B could be observed in eclampsia, perhaps even before the occurrence of seizures.

Methods

In this study, serum S100B was measured in pregnant women with eclampsia, preeclampsia, chronic hypertension, or normal blood pressure to determine whether these concentrations could be an indicator of neurologic involvement in pregnancy-related hypertension. This case–control study was conducted between 2000 and 2002 in the obstetric emergency department of a tertiary hospital in southern Brazil. Approval from the institution’s ethics review board was obtained before the study, and all patients provided written informed consent for participation. Patients eligible for the study were pregnant women with a gestational age >higher than 20 weeks admitted for medical evaluation or labor assistance. Exclusion criteria were present diagnosis or past history of neurologic disease, renal dysfunction, seizures related to other causes, HIV infection, or microangiopathies. Obstetric examination was performed, and a questionnaire including information on current pregnancy features and past obstetric, medical, and family histories was obtained. Blood pressure measurements were performed, and patients were classified into four groups according to previously established criteria on high blood pressure in pregnancy (1) as follows: (a) normal blood pressure [patients with systolic

blood pressure (SBP) \leq 140 mm Hg and diastolic blood pressure (DBP) \leq 90 mm Hg]; (b) preeclampsia (patients with SBP \geq 140 mm Hg or DBP \geq 90 mm Hg, evidence of proteinuria, and no history of hypertension outside of pregnancy); (c) chronic hypertension (patients with SBP \geq 140 mmHg or DBP \geq 90 mm Hg with a history of hypertension outside of pregnancy and no evidence of proteinuria); (d) eclampsia (patients fulfilling criteria for preeclampsia with the additional manifestation of seizures). Patients with preeclampsia superposed on chronic hypertension and those with gestational hypertension but no proteinuria or other evidence of preeclampsia were not included in the study.

Blood samples (5 mL of venous blood) were collected at the time of admission in an evacuated anticoagulant-free system and sent to the laboratory for centrifugation. In patients presenting with eclampsia, blood was collected up to 6 h after a seizure. Serum was separated from the clot and stored at < 70 °C until analysis. S100B was measured by a commercially available immunoluminometric assay (Sangtec 100®) as described previously (20). Briefly, this is a monoclonal two-site immunoassay that uses an antibody covalently bound to isoluminol as a tracer. All samples were measured in duplicate and were analyzed in the same experiment. The S100B calibration curve was linear up to 20 μ g/L, and the CV for duplicates across the entire concentration range for the calibrators and samples remained \leq 5%. The detection limit of the assay is 0.02 μ g/L.

Data are expressed as mean (SD). Statistical analysis was performed with SPSS, Ver. 10.0 (SPSS). Quantitative variables, including S100B serum concentrations, were compared by ANOVA followed by a Duncan post hoc test. Qualitative variables were compared by Fisher exact test. A P value \leq 0.05 was considered to indicate statistical significance.

Results

Fifty patients were enrolled for the study and classified as described above. The clinical and epidemiologic data for the patients are shown in Table 1. Chronically hypertensive patients were older and had more previous pregnancies than the other groups. Both the SBP and DBP were statistically lower in normotensive patients compared with the other groups. None of the patients allocated to the normotensive, chronic hypertension, or preeclampsia groups developed seizures during their stay at the hospital.

As shown in Fig. 1, there were no significant differences among the serum S100B concentrations of women with chronic hypertension [0.186 (0.12) $\mu\text{g/L}$], preeclampsia [0.185 (0.14) $\mu\text{g/L}$], and normal blood pressure [0.147 (0.07) $\mu\text{g/L}$]. However, serum S100B was significantly higher in eclampsia patients [0.424 (0.194) $\mu\text{g/L}$] compared with all other groups ($P < 0.05$).

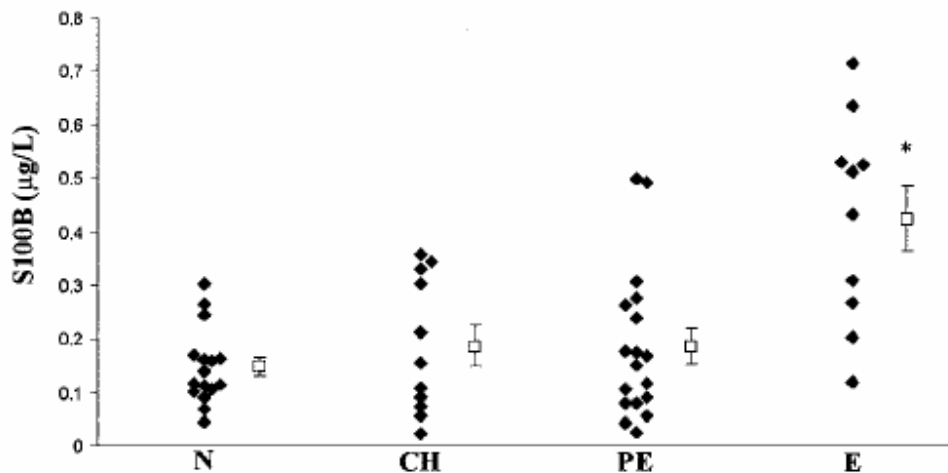


Figure. 1. Scatter plot comparing serum S100B concentrations among four groups of pregnant women.

N, normal blood pressure; CH, chronic hypertension; PE, preeclampsia; E, eclampsia.

$P < 0.05$ compared with all other groups.

Boxes and error bars indicate means and SD.

Table 1. Clinical features of patients and controls.

	Normotensive	Chronic hypertension	Preeclampsia	Eclampsia
n	16	11	18	10
Age, years (mean ± SD)	21,8±4,8	32,4 ^a ±7,2	24,8±6,2	19,6±6,9
Race, %				
White	69	82	83	80
Black	25	18	17	20
Smoking history, %				
Yes	25	27	22	20
No	75	73	78	60
Family history of preeclampsia, %				
Yes	31	36	33	40
No	69	64	67	60
Previous preeclampsia, %				
Yes	0	0	28 ^b	10
No	100	100	72	90
N ^o of previous pregnancies (mean ± SD)	2.3 ±1.4	4.9 ^a ± 3.5	2.0 ± 1.6	1.2 ± 0.4
Gestational age Weeks (mean ± SD)	34.6± 6.4	36.8 ± 1.9	34.7 ± 4.1	33.5± 3.9
SBP/DBP, ^c mmHg (mean ± SD)	109.3/67.9 ^d ±14.4/9.8	157.8/98.9 ± 26.4/12.7	146.2/93.8 ± 14.5/12.6	160.0/102.2 ± 18.0/18.

^a Significantly different from preeclamptic, eclamptic, and normotensive patients (P < 0.05).

^b Significantly different from eclamptic, chronically hypertensive, and normotensive patients (P < 0.05).

^c Mean blood pressures during admission.

^d Significantly different from chronically hypertensive, preeclamptic, and eclamptic patients (P < 0.05).

Discussion and conclusions

To our knowledge, this is the first study designed to assess serum S100B in pregnancy-related hypertensive disorders. Our results demonstrate increased concentrations of the protein in pregnant women with eclampsia, but not in those with preeclampsia or chronic hypertension, compared with controls. Several cellular events associated with CNS involvement in eclampsia could account for the present findings. The increased S100B may be secondary to cerebral vascular changes leading to overperfusion, edema, and ischemia, as well as to seizures themselves (2, 4, 6). However, it is unlikely that seizures per se are responsible for the increase in serum S100B because studies on epileptic patients have not found any increases (15–17). Therefore, it is possible that the increases in serum S100B observed in this study could actually precede the occurrence of seizures or other neurologic manifestations in eclampsia. Other causes of S100B production that do not involve vascular brain injury cannot be completely excluded by our study. Recent evidence suggests that extracerebral sources may also influence serum S100B (21), although usually in a minor way. Moreover, S100B production by the fetus could also be feasibly playing a role in our findings because concentrations of the protein are known to be quite high in cord blood compared with those found in adult serum (22, 23).

Current diagnosis of imminent eclampsia is based mostly on the clinical assessment of patients with preeclampsia, focusing on neurologic symptoms such as headache and visual alterations. The peripheral measurement of brain proteins such as S100B, however, has been shown to offer a sensitive alternative indicator of cell damage in the CNS when clinical and radiologic assessments are negative. S100B appears to satisfy various criteria for a peripheral marker of brain injuries, such as (a) simplicity of

measurement with good reproducibility, (b) detection in various biological fluids, (c) possibility of use in longitudinal monitoring because of its short half-life, and (d) well-established use as an early and quantitative marker of CNS injury. S100B can also offer the additional advantage of providing a quantitative indicator of the extent of brain lesions in various diseases (10, 11, 13, 14), and several previous studies have demonstrated the prognostic value of serum S100B in predicting neurologic prognosis in various conditions, including head trauma, stroke, and cardiac arrest (9, 10, 18, 24). In spite of the small size of our sample, our findings provide preliminary evidence that increased S100B is associated with eclampsia. Further studies with larger samples are required to determine whether these values can be used to predict the development of eclampsia before it leads to overt clinical manifestations. If this turns out to be the case, the use of S100B measurements to predict CNS involvement in pregnancy-related hypertension might conceivably play a useful role in the clinical management of this condition.

This research was supported by the following Brazilian funding agencies: Conselho Nacional de Pesquisa/Programa Nacional de Excelência (No. 41960904), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior; Pró-Reitoria de Pesquisa/Universidade Federal do Rio Grande do Sul; and Fundação de Incentivo a Pesquisa e Eventos/Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

References:

1. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:S1–22.
2. Belfort MA, Varner MW, Dizon-Townson DS, Grunewald C, Nisell H. Cerebral perfusion pressure, and not cerebral blood flow, may be the critical determinant of intracranial injury in preeclampsia: a new hypothesis. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:626–34.
3. Williams K, Galerneau F. Maternal transcranial Doppler in pre-eclampsia and eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003;21:507–13.
4. Naidu K, Moodley J, Corr P, Hoffmann M. Single photon emission and cerebral computerised tomographic scan and transcranial Doppler sonographic findings in eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1997;104:1165–72.
5. Schwartz RB, Feske SK, Polak JF, DeGirolami U, Iaia A, Beckner KM, et al. Preeclampsia-eclampsia: clinical and neuroradiographic correlates and insights into the pathogenesis of hypertensive encephalopathy. *Radiology* 2000;217:371–6.
6. Rutherford JM, Moody A, Crawshaw S, Rubin PC. Magnetic resonance spectroscopy in pre-eclampsia: evidence of cerebral ischaemia. *BJOG* 2003;110:416–23.
7. Belfort MA, Anthony J, Saade GR. Prevention of eclampsia. *Semin Perinatol* 1999;23:65–78.
8. Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol* 2001;33:637–68.
9. Ingebrigtsen T, Waterloo K, Jacobsen EA, Langbakk B, Romner B. Traumatic brain damage in minor head injury: relation of serum S-100 protein measurements to magnetic resonance imaging and neurobehavioral outcome. *Neurosurgery* 1999;45:468–75.

10. Wunderlich MT, Ebert AD, Kratz T, Goertler M, Jost S, Herrmann M. Early neurobehavioral outcome after stroke is related to release of neurobiochemical markers of brain damage. *Stroke* 1999;30:1190–5.
11. Lara DR, Gama CS, Belmonte-de-Abreu P, Portela LV, Gonçalves CA, Fonseca M, et al. Increased serum S100B protein in schizophrenia: a study in medication-free patients. *J Psychiatr Res* 2001;35:11–4.
12. Walz R, Portela LV, Tort AB, Neto EC, Fernandes LN, Gonçalves CA et al. Serum S100B levels in patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Neurology* 2000;54:2021–2.
13. Griffin WS, Yeralan O, Sheng JG, Boop FA, Mrak RE, Rovnaghi CR, et al. Overexpression of neurotrophic cytokine S100B in human temporal lobe epilepsy. *J Neurochem* 1995;65:228–33.
14. Steinhoff BF, Tumani H, Otto M, Mursch K, Wiltfang J, Herrendorf G, et al. Cisternal S100 protein and neuron-specific enolase are elevated and site-specific markers in intractable temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 1999;36:75–82.
15. Buttner T, Lack B, Jager M, Wunsche W, Kuhn W, Muller T, et al. Serum levels of neuron-specific enolase and S-100 protein after single tonic-clonic seizures. *J Neurol* 1999;246:459–61.
16. Palmio J, Peltola J, Vuorinen P, Laine S, Suhonen J, Keranen T. Normal CSF neuron-specific enolase and S-100 protein levels in patients with recent non-complicated tonic-clonic seizures. *J Neurol Sci* 2001;183:27–31.
17. Leutmezer F, Wagner O, Baumgartner C. Serum S-100 protein is not a suitable seizure marker in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2002;43:1172–4.
18. Petzold A, Green AJ, Keir G, Fairley S, Kitchen N, Smith M, et al. Role of serum S100B as an early predictor of high intracranial pressure and mortality in brain injury: a pilot study. *Crit Care Med* 2002;30:2705–10.

19. Schmidt M, Scheunert T, Steinbach G, Schirmer U, Marx T, Freitag N, et al. Hypertension as a risk factor for cerebral injury during cardiopulmonary bypass. Protein S100B and transcranial Doppler findings. *Anaesthesia* 2001;56:733–8.
20. Portela LV, Tort AB, Schaf DV, Ribeiro L, Nora DB, Walz R, et al. The serum S100B concentration is age dependent. *Clin Chem* 2002;48:950–2.
21. Missler U, Orłowski N, Notzold A, Dibbelt L, Steinmeier E, Wiesmann M. Early elevation of S-100B protein in blood after cardiac surgery is not a predictor of ischemic cerebral injury. *Clin Chim Acta* 2002;321:29–33.
22. Gazzolo D, Vinesi P, Marinoni E, Di Iorio R, Marras M, Lituania M, et al. S100B protein concentrations in cord blood: correlations with gestational age in term and preterm deliveries. *Clin Chem* 2000;46:998–1000.
23. Gazzolo D, Marinoni E, Di Iorio R, Lituania M, Bruschetti PL, Michetti F. Circulating S100B protein is increased in intrauterine growth-retarded fetuses. *Pediatr Res* 2002;51:215–9.
24. Martens P, Raabe A, Johnsson P. Serum S-100 and neuron-specific enolase for prediction of regaining consciousness after global cerebral ischemia. *Stroke* 1998;29:2363–6.

ANEXOS

7. Anexos

7.1. Termo de consentimento

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMADO

Estamos convidando a Senhora a participar do projeto de pesquisa: níveis Sangüíneos de s100b em gestantes com pré-eclâmpsia grave.

O objetivo deste estudo é o de dosar no sangue os valores de uma proteína (S-100B), que pode ser de utilidade na identificação de gestantes com risco aumentado para complicações do Sistema Nervoso Central, como por exemplo, convulsões e/ou eclâmpsia. Ainda não são conhecidos pela comunidade científica, os valores normais ou anormais desta proteína em gestantes com pré-eclâmpsia grave. Portanto os resultados do presente estudo poderão, no futuro, beneficiar muitas mulheres que têm gestações de alto risco.

O seu consentimento ou não de participar deste estudo em nada alterará os cuidados médicos e de enfermagem que você terá durante sua internação ou seu atendimento ambulatorial. Sua participação será a de permitir que quando da retirada de sangue para realização de exames laboratoriais de rotina no seu caso, os pesquisadores possam separar uma pequena amostra de seu sangue (5ml) para realizar a dosagem da proteína S100B no laboratório de pesquisa. Não haverá necessidade de retirada de novas amostras de sangue para o estudo, o qual, é claro, não acarretará em nenhum custo para você. Os pesquisadores garantem também que para fins da pesquisa seu nome não será identificado.

DECLARAÇÃO

Pelo presente Consentimento Informado, declaro que fui esclarecida, de forma clara e detalhada, livre de qualquer forma de constrangimento e coerção, dos objetivos, da justificativa, dos procedimentos que serei submetida, dos riscos, desconfortos e benefícios do presente projeto de pesquisa.

Fui igualmente informada:

- da garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida a cerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa;
- da liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuação do meu cuidado e tratamento;
- da segurança de que não serei identificada e que se manterá o caráter confidencial das informações relacionadas com a minha privacidade;
- do compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a minha vontade em continuar participando;
- da disponibilidade de tratamento médico e a indenização, conforme estabelece a legislação, caso existam danos a minha saúde, diretamente causados por esta pesquisa;
- de que se existirem gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Os pesquisadores responsáveis pelo Projeto de Pesquisa são a Dra. Janete Vettorazzi Stuczynski, Prof. Dr. José Geraldo Lopes Ramos, Prof. Dr.

Sérgio Martins-Costa e a Dra. Adriana P. Schmidt (fone 51 21018117 e 21018109), tendo este documento sido revisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa deste Hospital.

Nome da paciente:.....

Data: __/__/____

Assinatura da Paciente

Pesquisadores : Janete Vettorazzi Stuczynski/ Adriana P. Schmidt

7.2 Instrumento de pesquisa

Níveis séricos da proteína S100B em Gestantes com Pré-Eclâmpsia Grave

Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do HCPA

Departamento de Bioquímica da UFRGS

IDENTIFICAÇÃO:

Nome:.....Pront:.....

Idade:.....Cidade:.....

Cor: (1)branca (2) preta (3) mulata (4) outra.

A Sra. usou bebida alcoólica regularmente (>+1vez/sem) na gestação: (1) s (2) n

A Sra. fumou durante a gestação ? (1) sim (2) não

Cigarros/dia:.....

Data internação:.....

Pressão arterial na chegada ao CO : PASPAD.....

Pressão arterial máxima do dia internação: PASPAD.....

Dados da gestação:

IG aproximada:.....1^a eco:.....

Gemelar: () sim () não

Paridade: G.....P.....C..... A

Antecedente de gestação molar: () sim () não

Realizou pré-natal: ()sim () não

Quantas consultas de pré-natal? ()1 ()2 ()3 ()4 ()5 ()6 ()7 ()8 ()9 () ≥10

Utilizou anti-hipertensivos durante a gestação ? () sim () não.

Qual anti-hipertensivo? ##

(1) metildopa (2) atenolol (3) propranolol (4) hidroclorotiazida (5) captopril

(6) hidralazina (7) enalapril (8)nifedipina outros.....

Sabe-se portadora de HAS crônica/previamente à gestação: () sim () não

Utilizava anti-hipertensivo antes da gestação: () sim () não

Qual anti-hipertensivo? ##

(1) metildopa (2) atenolol (3) propranolol (4) hidroclorotiazida (5) captopril

(6) hidralazina (7) enalapril (8)nifedipina outros.....

Sabe-se portadora de diabetes? () sim () não

Que tipo DM? () DMI () DMII () DMG

Sabe-se portador de alguma doença não citada: () sim () não

Qual? #

(1) anemia (2) ITU (3) hiper/hipotireoidismo (4) asma (5) epilepsia

()outra?.....

Altura:..... Peso antes da gestação:.....Peso atual:.....

IMC pré-gravídico:.....IMC gravídico:.....

Ganho de peso durante a gestação:.....

Antecedentes:

Sua mãe teve PE, eclâmpsia ou aumento de pressão nas gestações:

()sim () não () não sabe informar

Sua irmã teve PE, eclâmpsia ou aumento de PA na gest:

()sim () não () Não sabe () não tem irmã/não tem

Esta gestação é com parceiro diferente das anteriores?

sim não primigesta

PE em gestação anterior:

sim não não sabe informar

Eclâmpsia em gestação anterior:

sim não não sabe informar

Diagnóstico na baixa:

(1) PEL (2) PEG (3) HELLP (4) Eclâmpsia (5) HELLP (06) HAS transitória

(10) Normotensa Outro:.....

Crise hipertensiva com tto. no dia coleta? sim não

Qual medicamento: (1) nifedipina (2) hidralazina (3) nifedipina + hidralazina

Pressão arterial máxima do dia internação: PASPAD.....

Coleta sangue:

Data:../...../200..... Hora: Hora da centrifugação:.....

Idade gestacional momento coleta:.....semanas

Teve sinais premonitórios: sim não

Há quantas horas esta com sinais premonitórios:.....

Quais sinais apresentou?

Cefaléia: sim não

Escotomas: sim não

Visão borrada/dupla: sim não

Outro.....

Com sinais premonitórios no momento da coleta? ()sim ()não

Melhora dos sinais premonitórios: ()sim ()não () não teve sinais

Há quantas horas melhorou (considerando a coleta):.....

Melhorou sinais após sulfato? ()sim () não. Quanto tempo após :.....

Hora do início do sulfato:.....

Número de horas entre inicio sulfato e a coleta:.....

Momento da coleta:

() sem trabalho de parto

() realizando indução do parto com ocitocina

() realizando indução com misoprostol

() em trabalho de parto fase latente

() em trabalho de parto fase ativa

Uso de sulfato de magnésio?

(1) não utilizou ainda

(2) em uso no momento da coleta. Uso háhoras.

(3) parou uso. Há quantas horas utilizou a última dose?.....hora

Utilizou corticóide? () sim () não

Há quantas horas iniciou uso:.....

Há quantas horas a última dose:.....

Critérios de gravidade para PE:

() sinais premonitórios

() níveis pressóricos

() alterações laboratoriais:.....

() fetal:.....

Medicamentos em uso no momento da coleta:.....

(1) ocitocina + SG

(2) SG

(3) SF

(4) petidina

(5) salbutamol + soro

(6) paracetamol

(7) antibiótico?.....

(8) anti-hipertensivos:.....

Data do nascimento:...../...../.....

RN: peso:..... Apgar1':.....Apgar 5'.....

Via de parto: (1) parto (2) cesariana

Tipo de anestesia: (1) local (2) geral (3) raquidiana (4) peridural

Indicação da cesariana:

(1) SFA (2) DCP (3) colo desfavorável (4) falha de indução (5) DPP

(6) pélvico (10) Outro:.....

Evolução/diagnóstico final:

(1) PEL (2) PEG (3) HELLP (4) Eclâmpsia (5) HELLP (06) HAS transitória

(10) Normotensa

Tabela de exames laboratoriais:

Exames	Internação Data:	Nascimento Data:
Multistix®		
Prot. Amost		
Creat. Amos		
Rel p/cr		
Proteinúria 24h		
Creatinúria 24h		
Cálcúria 24h		
Ht		
Hg		
Plaquetas		
Creatinina		
Acido úrico		
TGO		
TGP		
LDH		
Bil. tot.		
Outros		

V592n Vettorazzi, Janete

Níveis séricos da proteína S100B em gestantes com pré-eclâmpsia grave / Janete Vettorazzi ; orient. José Geraldo Lopes Ramos. – 2006.

123 f. ; il.

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Porto Alegre, BR-RS, 2006.

1. Gravidez 2. Hipertensão 3. Pré-eclâmpsia 4. Marcadores Biológicos 5. Proteínas Sangüneas I. Ramos, Geraldo Lopes II. Título.

NLM: WQ 215

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA