



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CAMPUS SOBRAL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

GELTON FONTELES

**ANÁLISE DA RELAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE ERVW-1
(rs4727276) COM A PATOGÊNESE DA PRÉ-ECLÂMPSIA EM MULHERES
DO NORDESTE BRASILEIRO**

SOBRAL

2024

GELTON FONTELES

ANÁLISE DA RELAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE ERVW-1
(rs4727276) COM A PATOGÊNESE DA PRÉ-ECLÂMPSIA EM MULHERES DO
NORDESTE BRASILEIRO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Linha de Pesquisa: Doenças crônicas e câncer.

Orientador: Prof. Dr. José Juvenal Linhares.

Coorientador: Prof. Dr. Anderson Weiny Barbalho Silva

SOBRAL

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F762a Fonteles, Gelton.
ANÁLISE DA RELAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE ERVW-1 (rs4727276) COM A
PATOGENESE DA PRÉ-ECLÂMPZIA EM MULHERES DO NORDESTE BRASILEIRO / Gelton
Fonteles. – 2024.
61 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde, Sobral, 2024.

Orientação: Prof. Dr. José Juvenal Linhares.

Coorientação: Prof. Dr. Anderson Weiny Barbalho Silva.

1. Casos clínicos. 2. DNA. 3. Gestação. 4. Genotipagem. 5. Hipertensão. I. Título.

CDD 610

GELTON FONTELES

**ANÁLISE DA RELAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE ERVW-1
(rs4727276) COM A PATOGÊNESE DA PRÉ-ECLÂMPSIA EM MULHERES
DO NORDESTE BRASILEIRO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Linha de Pesquisa: Doenças crônicas e câncer.

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Juvenal Linhares (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Anderson Weiny Barbalho Silva (Coorientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Lissiana Magna Vasconcelos Aguiar (Examinadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. José Jackson do Nascimento Costa (Examinador)
Centro Universitário INTA (UNINTA)

À Deus;

À minha esposa, Thais Fonteles;

À minha filha, Ana Sofia;

Aos meus pais, Jerônima e Stacio.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará (UFC) pela minha formação, em particular a Faculdade de Medicina – Campus Sobral.

Aos meus familiares representados pelos meus pais Francisco Stacio Costa Soares e Jerônima Maria Fonteles; meu irmão Gelson Fonteles; minha esposa Thais Torres Fonteles e minha filha Ana Sofia Torres Fonteles.

Ao meu orientador Dr. José Juvenal Linhares pela valiosa orientação, pelos conhecimentos e ensinamentos, e principalmente pela confiança depositada para realização deste trabalho.

Ao meu coorientador Dr. Anderson Weiny Barbalho Silva pelo exemplo de competência, pelos conhecimentos e ensinamentos repassados e por sua amizade.

À professora Dra. Louhanna Pinheiro Rodrigues Teixeira, ao Laboratório de Biologia Molecular e do Desenvolvimento (UNIFOR) e ao Lailton Oliveira da Silva pelo empenho e colaboração na realização das análises genéticas presentes neste trabalho.

Aos estudantes da Iniciação Científica que contribuíram grandemente com as coletas e análise de dados.

À minha banca examinadora, professora Dra. Lissiana Magna Vasconcelos Aguiar e professor Dr. José Jackson do Nascimento Costa pela valiosa contribuição, disponibilidade de tempo e empenho na melhoria do trabalho.

Por fim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho meu muito obrigado.

RESUMO

A pré-eclâmpsia (PE) é uma síndrome multissistêmica que pode ocorrer durante a gravidez. É uma das principais causas de mortalidade materna, fetal e neonatal durante a gestação. As suas causas não são claras e os mecanismos subjacentes à sua etiopatogenia permanecem pouco elucidados. As hipóteses de que as causas da PE são pelo menos parcialmente genéticas é amplamente sugerida. Assim, é importante a identificação de biomarcadores moleculares que a detectem, como através dos polimorfismos do gene ERVW-1, relacionado ao processo de placentogênese. Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi determinar se o polimorfismo rs4727276 do gene ERVW-1 estaria associado a PE em mulheres da região Norte do Estado do Ceará, Brasil. Para isso, foram coletados dados clínicos e material genético de raspado bucal de pacientes admitidas na Maternidade Sant'Ana da Santa Casa de Misericórdia de Sobral (SCMS) divididas em dois grupos: (1) gestantes com PE (casos, n=64) e (2) gestantes normotensas (controles, n=76). O ensaio laboratorial foi feito pela técnica de RT-qPCR por genotipagem para identificação do polimorfismo rs4727276 relacionados ao gene ERVW-1 nas amostras coletadas. As análises estatísticas foram feitas utilizando o *software* SigmaPlot® versão 11.0 (SYSTAT. Software Inc.) e os dados apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.M). Em termos de distribuição genotípica e frequência dos alelos, foi observado diferença significativa na distribuição do genótipo (CC vs CG+GG/CG vs CC+GG) entre os grupos PE e Controle ($p = 0,011$; $p = 0,05$, respectivamente), indicando uma tendência de maior expressão em PE para os respectivos genótipos. Porém, não apresentou relação com a gravidade da doença ou com a época de surgimento. Conclui-se que o polimorfismo rs4727276 do gene ERVW-1 demonstrou forte associação com a PE em uma população de mulheres do Nordeste brasileiro. Além disso, pode ser considerado um biomarcador molecular na fisiopatologia da pré-eclâmpsia em mulheres, possibilitando a identificação dos fatores de risco para a doença e uma detecção precoce.

Palavras-chave: Casos clínicos. DNA. Gestação. Genotipagem. Hipertensão.

ABSTRACT

Preeclampsia (PE) is a multisystem syndrome that can occur during pregnancy. It's one of the main causes of maternal, fetal and neonatal mortality during pregnancy. Its causes are unclear and the mechanisms underlying its etiopathogenesis remain poorly understood. The hypothesis that the causes of PE are at least partially genetic is widely suggested. Thus, it is important to identify molecular biomarkers that detect it, such as through polymorphisms of the ERVW-1 gene, related to the placentogenesis process. In this sense, the objective of this study was to determine whether the rs4727276 polymorphism of the ERVW-1 gene would be associated with PE in women from the northern region of the State of Ceará, Brazil. For this, clinical data and genetic material mouth scraping were collected from patients admitted in the Sant'Ana Maternity Hospital of Holy House of Mercy Hospital of Sobral divided into two groups: (1) pregnant women with PE (cases, n=64) and (2) normotensive pregnant women (controls, n=76). The laboratory test was performed using the RT-qPCR technique by genotyping to identify the rs4727276 polymorphism related to the ERVW-1 gene in the collected samples. Statistical analyzes were performed using SigmaPlot® software version 11.0 (SYSTAT. Software Inc.) and data presented as mean \pm standard error of the mean (SEM). In terms of genotypic distribution and allele frequency, a significant difference was observed in the genotype distribution (CC vs CG+GG/CG vs CC+GG) between the PE and Control groups ($p = 0,011$; $p = 0,05$, respectively) indicating a greater expression in PE for the respective genotypes. However, it was not related to the disease severity or the time of onset. It is concluded that the rs4727276 polymorphism of the ERVW-1 gene demonstrated a strong association with PE in a population of women from the Brazilian Northeast. Furthermore, it can be considered a molecular biomarker in the pathophysiology of pre-eclampsia in women, enabling the identification of risk factors for the disease and early detection.

Key-words: Clinical cases. DNA. Gestation. Genotyping. Hypertension.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Principais complicações associadas à pré-eclâmpsia20

Figura 2 – Invasão endovascular do citotrofoblasto nas artérias em espiral. (A) Não apresenta a invasão do citotrofoblasto. (B) Apresenta uma vascularização superficial e incorreta, impedindo o suprimento de nutrientes e oxigênio ao feto. (C) Útero gravítico normal apresenta correta invasão vascular da decídua e miométrio. CTE: Células do trofoblasto extraviloso; CTEN: Células do trofoblasto endovascular.21

Figura 3 – Fisiopatologia da pré-eclâmpsia: isquemia placentária, disfunção endotelial e hipertensão. A isquemia placentária resulta no aumento da síntese de Fms-like tirosina quinase solúvel 1 (sFlt-1), Fator de necrose tumoral (TNF)- α e Interleucina (IL)-6, autoanticorpos do receptor de angiotensina II tipo 1 (AT1-AA) e tromboxano. O aumento desses fatores parece resultar em disfunção endotelial pela diminuição da biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) e aumento das espécies reativas de oxigênio (ROS) e da endotelina-1, que por sua vez resulta em disfunção renal, aumento da resistência vascular periférica e, finalmente, em hipertensão. PIGF: Fator de crescimento placentário. VEGF: Fator de crescimento endotelial vascular26

LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO 1

Figura 1 – Desenho do estudo.....	35
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Biomarcadores identificados/selecionados utilizados no estudo citado	23
---	----

LISTA DE TABELAS DO CAPÍTULO 1

Tabela 1 – Características gerais das pacientes incluídas no estudo	39
Tabela 2 – Alguns parâmetros hematológicos e bioquímicos incluídos no estudo.....	40
Tabela 3 – Distribuição dos genótipos e alelos do polimorfismo rs4727276 nos grupos PE (Casos) e Controle.....	41
Tabela 4 – Distribuição dos genótipos do polimorfismo rs4727276 em pacientes com PE Leve e Grave ou Precoce e Tardia	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AT1-AA	Receptor de angiotensina II tipo 1
BNP	Peptídeo natriurético cerebral
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CRP	Proteína C reativa
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FEBRASCO	Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia
Hb	Hemoglobina
HCT	Hematócrito
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular 1
IC	Intervalo de confiança
IL-1Ra	Antagonista do receptor de interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de massa corporal
LABIREP	Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia da Reprodução
LDH	Desidrogenase láctica
NO	Óxido nítrico
NUBIS	Núcleo de Biotecnologia de Sobral
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PE	Pré-eclâmpsia
PIGF	Fator de crescimento placentário
PLT	Plaquetas
RT-qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa em Tempo Real
SCMS	Santa Casa de Misericórdia de Sobral
sFlt-1	Tirosina quinase solúvel 1
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TCUD	Termo de Compromisso de Utilização de Dados
TGO	Transaminase oxalacética
TGP	Transaminase pirúvica
TIMP1	Inibidor tecidual da metaloproteinase 1

TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
UNINTA	Centro Universitário INTA
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
WBV	Contagem de glóbulos brancos

LISTA DE SÍMBOLOS

\geq	Maior ou igual que
\leq	Menor ou igual que
$<$	Menor que
%	Porcentagem
®	Marca Registrada
™	Marca Comercial
kg	Quilograma
mg	Micrograma
m ²	Metro quadrado
ng	Nanograma
nM	Nanomol
mmHg	Milímetro de mercúrio
μL	Microlitro
mL	Mililitro
°C	Grau Celsius

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1 Síndrome da pré-eclâmpsia e fatores de risco associados.....	20
2.2 Manifestações clínicas e laboratoriais.....	24
2.3 Fatores genéticos relacionados à pré-eclâmpsia	25
2.3.1 <i>Placentação e o gene ERVW-1</i>	26
3 JUSTIFICATIVA	28
4 HIPÓTESES	29
5 OBJETIVOS	30
5.1 Objetivo geral.....	30
5.2 Objetivos específicos	30
6 CAPÍTULO 1: Avaliação da associação do polimorfismo do gene ERVW-1 (rs4727276) com a pré-eclâmpsia em mulheres brasileiras	31
7 CONCLUSÕES GERAIS	47
REFERÊNCIAS	48
APÊNDICE A – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS	54
ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	57
ANEXO B – TERMO DE COMPROMISSO DE UTILIZAÇÃO DE DADOS	60
ANEXO C – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	62

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia, a pré-eclâmpsia (PE) é uma doença multifatorial e multissistêmica, que se caracteriza pela presença da hipertensão arterial e proteinúria após a 20ª semana de gestação, quando anteriormente a gestante se apresentava normotensa, sendo responsável por grande parte da interrupção prematura da gestação (FEBRASGO, 2018). Além disso, é possível apresentar PE quando ocorre disfunção de órgãos-alvo, como os rins, fígado e pulmões, mesmo na ausência de proteinúria (Magee, et al. 2022). Por ser uma síndrome sistêmica, há maior possibilidade de evoluir para situações de gravidade como eclâmpsia e síndrome HELLP (*hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets*, que significa hemólise, aumento de enzimas hepáticas e plaquetopenia). Nesse seguimento, a eclâmpsia refere-se à ocorrência de crise convulsiva tônico-clônica generalizada ou coma (Eclâmpsia sine Eclâmpsia) em gestante com PE. Já a síndrome de HELLP, refere-se à associação de intensa hemólise, comprometimento hepático e consumo de plaquetas, em pacientes com PE (Magee, et al. 2022; ACOG, 2020).

Diversos fatores estão relacionados a patogênese da PE, dentre eles estão os fatores genéticos. Dentre os genes que potencialmente podem estar relacionados à patogênese da PE se destaca a sincitina-1, que é codificada pelo gene ERVW-1 e está localizado na região de cromossomo humano 7q21.2 (ID do gene: 30816). O ERVW-1 é um gene membro da família multigênica de elementos retrovirais endógenos humanos HERV-W que desempenha um papel crucial na diferenciação de sinciciotrofoblasto e na placentação ideal (Gholami Barzoki et al., 2023; Priscakova et al., 2016). Estudos demonstraram que a desregulação da expressão de sincitina-1 causa a sua redução no trofoblasto, se correlacionando com o desenvolvimento e gravidade de PE (Knerr; Beinder; Rascher, 2002). Além disso, a regulação da sincitina-1 pode ser afetada já no nível transcricional (Vargas et al., 2011; Gholami Barzoki et al., 2023). Outras pesquisas mostraram que a expressão de ERVW-1 é regulada para baixo em casos de PE, e esta regulação negativa se correlaciona com a gravidade dos sintomas (Priscakova et al., 2016).

Estudos tem evidenciado um possível papel atuante da sincitina-1 na modulação da inflamação e na patogênese da PE quando se compara com achados relacionados a outras patogenias, como neuroinflamação e esclerose múltipla (Bu et al., 2022). Porém,

ainda não está claro como (ou se) a sincitina-1, e o gene codificante ERVW-1, possuem um papel no desenvolvimento da PE, mas sabe-se que um padrão fisiologicamente normal da produção de sincitina-1 é crucial para o desenvolvimento adequado do trofoblasto na placentação (West et al., 2022; Gholami Barzoki et al., 2023). Por outro lado, a expressão de sincitina-1 é ativada e regulada positivamente em uma variedade de doenças malignas, incluindo câncer de mama, carcinomas endometriais, câncer de ovário, câncer colorretal, leucemia e linfoma (Huang et al., 2014).

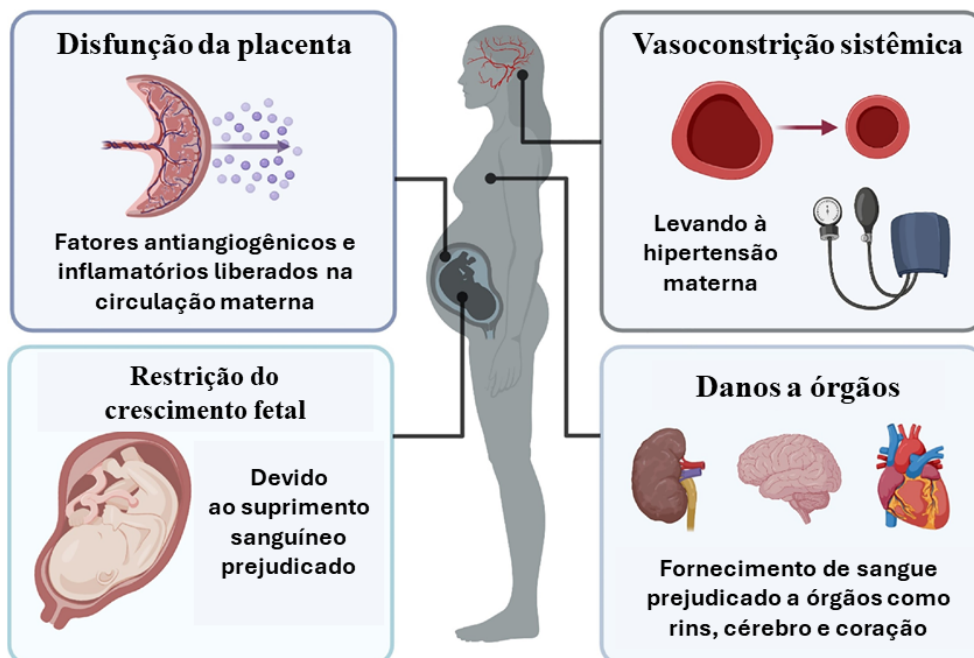
Com o avanço nos estudos moleculares de genotipagem e PE, têm-se sugerido uma possível associação de polimorfismos no gene ERVW-1 com os mecanismos que controlam a patogênese da PE, porém ainda há uma escassez de publicações sobre o assunto. A identificação de biomarcadores associados à fisiopatologia dessa condição possibilitaria a ampliação de estratégias de identificação e de terapia para melhorar os resultados maternos e fetais. Essas estratégias incluiriam a busca por marcadores genéticos/epigenéticos que possam ser identificados antes que a condição se manifeste clinicamente. Assim, o objetivo desse estudo foi de avaliar a possível relação do polimorfismo do gene ERVW-1 com a patogênese da PE em uma amostragem de mulheres da Região Norte do Ceará, no Nordeste brasileiro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Síndrome da pré-eclâmpsia e fatores de risco associados

A pré-eclâmpsia (PE) é uma síndrome multissistêmica e específica que pode acontecer durante a gravidez, e é tradicionalmente diagnosticada quando a mulher apresenta surgimento ou aumento da pressão arterial ($\geq 140/90$ mmHg) e proteinúria (perda excessiva de proteínas através da urina). A PE é uma das principais causas de mortalidade materna, fetal e neonatal (FEBRASGO, 2018). Dessa forma, a importância clínica desse distúrbio reside, principalmente, em sua relação com os altos riscos associados a morbidade. A figura 1 mostra as principais complicações associadas à pré-eclâmpsia.

Figura 1: Principais complicações associadas à pré-eclâmpsia.



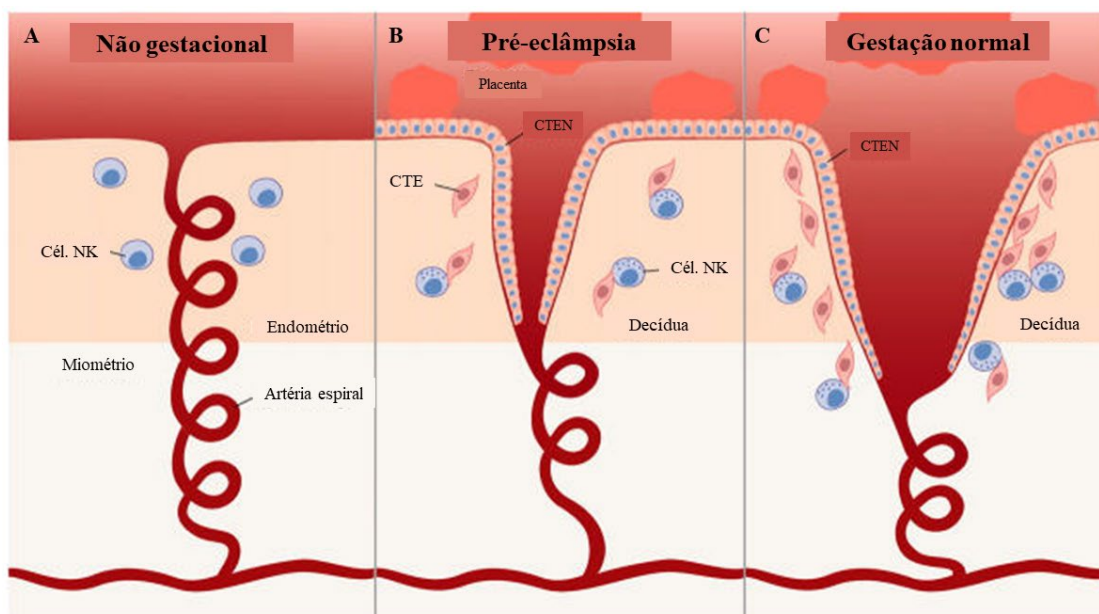
Fonte: Adaptado de De Alwis; Binder; Hannan, 2021.

Quando não tratadas, as mulheres grávidas com PE podem apresentar complicações como eclâmpsia, ruptura hepática, acidente vascular cerebral, edema pulmonar ou insuficiência renal, que podem ser letais (Dimitriadis et al., 2023; FEBRASGO, 2018). Além disso, a PE também está relacionada à restrição do

crescimento fetal e ao parto prematuro devido, principalmente, a falta de suprimentos ao feto pela incorreta invasão vascular da decídua e miométrio (Figura 2). Crianças nascidas de mães com PE têm um risco aumentado de displasia broncopulmonar e paralisia cerebral, causadas por parto prematuro e por serem pequenas para a idade gestacional (Hansen et al., 2010; Strand et al., 2013).

Por ser uma síndrome sistêmica, há maior possibilidade de evoluir para situações de gravidade como eclâmpsia e síndrome HELLP. A eclâmpsia compreende a presença de crises tônico-clônicas generalizadas ou coma com quadro hipertensivo, podendo ocorrer durante o parto e perdurar até cerca de dez dias depois (Dimitriadis et al., 2023; Belay; Wudad, 2019). A causa exata das convulsões podem estar relacionadas ao vasoespasmismo cerebral com isquemia local, a encefalopatia hipertensiva com hiperperfusão, a edema vasogênico e a lesão endotelial (Zugaib; Pulcineli, 2016; Wright, 2017). Já síndrome de HELLP é caracterizada por um conjunto de sinais e sintomas associados à hemólise microangiopática, sendo este o principal fator característico da síndrome, à trombocitopenia e de alterações nos testes de função hepática (Ferrazzi et al., 2017; Sánchez; Ponce; Benítez, 2016).

Figura 2: Invasão endovascular do citotrofoblasto nas artérias em espiral. (A) Não apresenta a invasão do citotrofoblasto. (B) Apresenta uma vascularização superficial e incorreta, impedindo o suprimento de nutrientes e oxigênio ao feto. (C) Útero gravídico normal apresenta correta invasão vascular da decídua e miométrio. CTE: Células do trofoblasto extraviloso; CTEN: Células do trofoblasto endovascular.



Fonte: Parham, 2004.

A PE pode ser clinicamente caracterizada nas formas leve e grave (baseadas principalmente em critérios clínicos e prognósticos), e classificada em precoce ou tardia (considerando a idade gestacional). A forma grave de PE envolve um ou mais dos seguintes critérios: (1) pressão arterial sistólica (PAS)/pressão arterial diastólica (PAD) \geq 160/110 mmHg enquanto em repouso; (2) proteinúria (\geq 300 mg) na amostra de urina em 24 horas; (3) oligúria súbita; (4) distúrbios visuais, dor de cabeça, dor abdominal; (5) níveis elevados de creatinina sérica e transaminases, trombocitopenia e restrição no crescimento fetal (Reis et al., 2010; Turner, 2010). Já a forma leve, sem sinais de gravidade, quando (1) PAS/PAD entre 140-159/90-100 mmHg e com proteinúria (\geq 300 mg) na amostra de urina em 24 horas ou com valor igual ou superior a 1+ no teste de fita (dois deles) ou 2+ em uma fita (FEBRASGO, 2018; Zugaib; Pulcineli, 2016), sem os demais critérios de gravidade definidos acima. Em relação a idade gestacional, a manifestação de PE de início precoce ocorre em um período $<$ 34 semanas e a manifestação tardia \geq 34 semanas (FEBRASGO, 2018). A PE precoce está geralmente associada a um comprometimento do desenvolvimento placentário e da circulação uteroplacentária. Já a PE de início tardio, frequentemente está associada a distúrbios metabólicos, inflamações e comprometimentos endoteliais (Reis et al., 2010).

Embora a predição perfeita entre fatores de risco associados ao desenvolvimento da PE não seja estabelecida, a distinção entre mulheres de baixo e alto risco é possível. Fatores de risco alto incluem hipertensão prévia, doenças renais, diabetes e doenças autoimunes (Bramham et al., 2014). Fatores de risco moderados incluem idade de 40 anos ou mais, intervalo gestacional maior que 10 anos, índice de massa corporal (IMC) de 35 kg/m² ou mais, síndrome do ovário policístico, história familiar de pré-eclâmpsia e gravidez múltipla (NICE, 2011; Roos et al., 2011). Além disso, um estudo demonstrou que mulheres que doaram um rim tinham duas vezes mais probabilidade de ter PE do que mulheres que não doaram um rim (Garg et al., 2015). Em relação à predisposição hereditária, embora alguns autores tenham atribuído a participação de polimorfismos de alguns genes, os resultados ainda permanecem inconsistentes. Entretanto, estudos mostram que um histórico familiar de PE em uma gravidez anterior aumenta o risco em gestações subsequentes (Dias, 2015; Zhao, 2013; Oliveira, 2016).

Fatores clínicos e de estilo de vida adicionais que predizem a PE no início da gravidez incluem pressão arterial média na 15^a semana de gestação, peso materno ao nascer, história familiar de doença coronariana ou PE (North et al., 2011). Em um grande

estudo multicêntrico realizado nos Estados Unidos, fatores de risco clínicos (raça, IMC e pressão arterial de entrada) combinados com alteração nas concentrações sanguíneas maternas de fatores angiogênicos, entre o primeiro e o início do segundo trimestre, predisse PE de início precoce (sensibilidade de 88%; especificidade de 80%) (Myatt et al., 2013).

Os resultados de outro estudo mostraram que uma combinação de biomarcadores (Tabela 1), fatores de risco clínicos e ultrassom *Doppler* da artéria uterina na 20ª semana de gestação teve uma precisão muito boa para prever a PE (Kenny et al., 2014). Os resultados de uma meta-análise confirmaram a precisão do ultrassom *Doppler* da artéria uterina no primeiro trimestre para a previsão de início precoce de PE (sensibilidade 48%; especificidade 92%) (Velauthar et al., 2014). Além disso, as concentrações de fator de crescimento placentário circulante (PIGF), fator de crescimento endotelial vascular tirosina quinase 1 e endoglina solúvel diferem significativamente antes de 30 semanas de gestação em mulheres que desenvolveram PE, mas a precisão do teste desses marcadores é muito baixa para permitir seu uso na prática clínica (Kleinrouweler et al., 2012).

Tabela 1.

Biomarcadores identificados/selecionados utilizados no estudo citado.

Biomarcador
Angiogenina
BNP (Peptídeo natriurético cerebral)
CRP (Proteína C reativa)
Cistatina C
Elafina
ICAM-1 (Molécula de adesão intercelular 1)
IL-1Ra (Antagonista do receptor de interleucina 1)
Leptina
Receptor de leptina
PIGF (Fator de crescimento placentário)
TIMP1 (Inibidor tecidual da metaloproteinase 1)

Fonte: elaborada pelo autor, baseada em Kenny et al. (2014).

Biomarcadores são moléculas encontradas no soro das gestantes que podem ser associadas a PE antes que a condição se manifeste clinicamente ou caso já tenha se manifestado (Portelli; Baron, 2018; Kenny et al., 2014). A PE está ligada a alterações nos

níveis circulatórios maternos de proteínas pró e antiangiogênicas, que têm sido estudadas como indicadores ao longo da idade gestacional (Myat et al., 2013). Esses e outros fatores são os responsáveis por indicar a presença da desordem por meio, principalmente, das manifestações clínicas e laboratoriais.

2.2 Manifestações clínicas e laboratoriais

De modo geral, as mulheres com PE não se sentem doentes até a condição se tornar grave, oferecendo risco de vida (Dimitriadis et al., 2023; Belay; Wudad, 2019). Por isso, é necessário que seja realizada a detecção precoce pelos profissionais de saúde para evitar a evolução da doença, o que coloca em risco a vida da mãe e do feto (Bhering et al., 2021). Clinicamente, os critérios diagnósticos para PE são definidos por elevação da pressão arterial ($\geq 140/90$ mmHg) após 20 semanas de gestação, combinada ou não à proteinúria que excede 300 mg/dia ou 2+ de proteína em um teste de fita isolado, ou ainda 1+ de proteína em dois testes de fita, podendo estar associada a presença de sinais de gravidade clínica e/ou laboratorial, mesmo sem proteinúria e desaparecendo após o puerpério (Dimitriadis et al., 2023; FEBRASGO, 2018). A hipertensão é definida como pressão arterial sistólica superior a 140 mmHg ou pressão arterial diastólica superior a 90 mmHg em duas ocasiões com intervalo de 4 a 6 horas (ACOG, 2020). O quadro hipertensivo no distúrbio da pré-eclâmpsia pode ser relacionado à isquemia placentária e disfunção endotelial através do desequilíbrio entre fatores inflamatórios e aumento de espécies reativas de oxigênio (ERO), resultando em disfunção endotelial e aumento da resistência vascular periférica (Figura 3).

Outras disfunções e complicações podem ser consideradas, como complicações neurológicas ou hematológicas, disfunção uteroplacentária ou restrição do crescimento fetal, insuficiência renal e envolvimento hepático (Zugaib; Pulcineli, 2016; FEBRASGO, 2018; Hansen et al., 2010; Strand et al., 2013). Um recente estudo mostrou que a pré-eclâmpsia/eclâmpsia/síndrome HELLP são uma das principais causas de lesão renal aguda relacionada à gravidez, destacando a necessidade de intervenções preventivas para reduzir esses problemas e até mesma a mortalidade materna, como através da medição regular da pressão arterial, check-ups regulares e adesão aos cuidados pré-natais (Gautam et al. 2024).

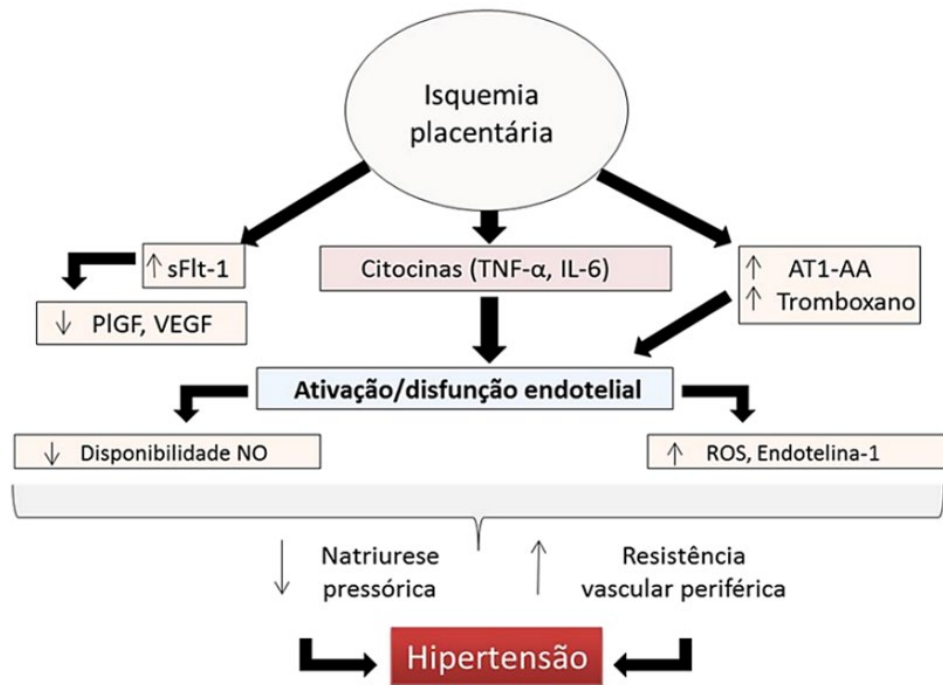
Alteração nos parâmetros hematológicos é comum e característico durante o estado gravídico normal, como o aumento do volume sanguíneo, aumento de glóbulos vermelhos e brancos e a diminuição de plaquetas (Chandra et al., 2012). Em relação a PE, um estudo pioneiro mostrou que as plaquetas circulam em um estado mais extensamente ativado durante a PE do que durante a gravidez normal (Konijnenberg et al., 1997). Além disso, há aumento da quantidade de linfócitos como um indicativo de estado inflamatório/imune, como já avaliado em outro estudo (Wang et al., 2019).

2.3 Fatores genéticos relacionados à pré-eclâmpsia

As causas da PE não são claras e, apesar do seu significado clínico, o tratamento dessa desordem não mudou substancialmente com o passar do tempo, uma vez que os mecanismos subjacentes à sua etiopatogenia permanecem pouco elucidados. As hipóteses de que a causa da PE é pelo menos parcialmente genética é amplamente sugerida. Assim, um desafio na atualidade seria identificar biomarcadores moleculares que detectassem essa síndrome antes mesmo do aparecimento de suas manifestações clínicas ou padrões genéticos relacionados, favorecendo alternativas para a prevenção e tratamento (Sun et al., 2019; Teimoori et al., 2019).

Estudos pioneiros sugeriram que as causas genéticas da PE estariam relacionadas a um único gene dominante atuando na mulher (Arngrimsson; Bjornsson; Gelrason, 1995). Porém, outros teorizaram que o genótipo materno seria o principal responsável pela suscetibilidade de desenvolvimento da desordem, mas haveria uma pequena parte sendo desempenhada pelo genótipo fetal (Cooper; Brennecke, 1993). No mais, investigações indicam que a PE está sob controle genético multifatorial (Buurma et al., 2013; Chang; Seow; Chen, 2023). Acredita-se que a pré-eclâmpsia resulte de uma complexa interação entre componentes genéticos e fatores ambientais. A evidência de um componente genético vem de estudos familiares, que mostraram que a PE é relativamente comum entre filhas e irmãs de mulheres com PE (Esplin et al., 2001; Nilsson et al., 2004). Além disso, a prevalência de pré-eclâmpsia difere entre vários grupos étnicos (Stegers et al., 2010). No entanto, a genética subjacente é complexa e atualmente não está claro quais genes estão envolvidos e como as variantes genéticas individuais contribuem para a PE.

Figura 3: Fisiopatologia da pré-eclâmpsia: isquemia placentária, disfunção endotelial e hipertensão. A isquemia placentária resulta no aumento da síntese de Fms-like tirosina quinase solúvel 1 (sFlt-1), Fator de necrose tumoral (TNF)- α e Interleucina (IL)-6, autoanticorpos do receptor de angiotensina II tipo 1 (AT1-AA) e tromboxano. O aumento desses fatores parece resultar em disfunção endotelial pela diminuição da biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) e aumento das espécies reativas de oxigênio (ERO) e da endotelina-1, que por sua vez resulta em disfunção renal, aumento da resistência vascular periférica e, finalmente, em hipertensão. PlGF: Fator de crescimento placentário. VEGF: Fator de crescimento endotelial vascular.



Fonte: Gilbert (2008).

2.3.1 Placentação e o gene *ERVW-1*

A etiologia da PE não foi totalmente compreendida, porém uma das prováveis causas relacionadas a esse distúrbio pode estar refletida sobre a placenta. A placentação anormal manifesta-se com uma interrupção da remodelação da artéria espiral materna que leva à perfusão placentária insuficiente (Roberts; Bell, 2013; Parham, 2004). Estudos demonstraram que a diferenciação deficiente do trofoblasto durante a PE leva à fusão celular insuficiente e formação de sinciotrofoblasto instável e à invasão defeituosa das artérias espirais pelo trofoblasto (Uzan et al., 2011; Knerr; Beinder; Rascher, 2002), causando um processo fisiopatológico de hipóxia e inflamação. A metilação anormal do DNA durante a placentação é o fator epigenético mais importante relacionado à PE. Além

disso, mudanças na modificação de histonas como acetilação e o efeito de superregulação ou baixa regulação de miRNAs ou longos RNAs não codificantes em várias vias de sinalização podem resultar em PE (Kamrani et al., 2019).

A sincitina 1 é um dos fatores que medeia a fusão das células citotrofoblásticas da placenta com o sinciciotrofoblasto multinucleado e a diferenciação do sincício, sendo sua alta expressão associada ao tecido placentário em condições fisiológicas normais (Gholami Barzoki et al., 2023; Muir; Lever; Moffett, 2006; Handwerger, 2010). A sincitina 1 é codificada pelo gene ERVW-1, localizado no locus de cromossomo humano 7q21.2 (número de acesso do GenBank AC000064, posições 28068 a 38289). Um estudo demonstrou que níveis reduzidos da expressão de sincitina-1 em síndromes placentárias se correlacionam com hipermetilação epigenética da região promotora de ERVW-1, afetando não só a placentogênese, mas também o desenvolvimento do feto e da mãe durante a gravidez (Ruebner et al., 2013). Nesse contexto, outros estudos demonstraram que a desregulação da expressão da sincitina 1 no trofoblasto se correlaciona com o desenvolvimento e a gravidade da PE (Knerr; Beinder; Rascher, 2002).

Os cromossomos homólogos são parecidos entre si, mas em determinadas localizações do cromossomo (loci) pode haver variações na sequência do DNA, caracterizando o que se conhece por polimorfismo. Dessa forma, os polimorfismos podem atuar como marcadores genéticos, uma vez que são transmitidos associados a outros genes localizados na região cromossômica próxima a eles, podendo influenciar diretamente sobre fatores de risco associados a doenças (Romero et al., 2014). Em um estudo realizado com uma população europeia, foram identificados 4 polimorfismos relacionado ao gene ERVW-1, chamadas de rs4727276, rs148592540, rs569899772 e rs555416193 (Priscakova et al., 2016). Apesar do estudo não ter mostrado relação significativa entre os polimorfismos encontrados e os casos de PE, o polimorfismo rs4727276 se mostrou mais frequente. Além do estudo citado, parece não haver investigações que discutam a possível associação de variantes genéticas (polimorfismos) do gene ERVW-1 em suas regiões reguladoras em casos de PE.

3 JUSTIFICATIVA

Em virtude das consequências da pré-eclâmpsia (PE), em casos de não diagnóstico e tratamento, torna-se cada vez mais imprescindível o conhecimento da patogênese dessa enfermidade. Nesse sentido, os estudos da doença por meio da descoberta de novos biomarcadores moleculares têm sido esperançosos, uma vez que várias investigações têm procurado uma possível associação de polimorfismos de genes com a etiopatogenia da PE (Cunha et al., 2011; Oliveira, 2016; Pissetti et al., 2014; Teimoori et al., 2019).

Observa-se o aumento do risco em gestantes com histórico familiar e com história de PE em gestação anterior, o que reforça a hipótese que existe um componente genético influenciando o desenvolvimento dessa patologia (Oliveira, 2016). Outras características geográficas, socioeconômicas e raciais sugerem que o componente genético pode contribuir para a sua suscetibilidade (Cunha et al., 2011; Pissetti et al., 2014; Teimoori et al., 2019). Nesse contexto, pesquisas têm demonstrado que a desregulação da expressão de sincitina-1, gene relacionado a patogênese da PE e codificada pelo gene ERVW-1, se correlaciona com o desenvolvimento e gravidade da doença, e que a regulação da sincitina-1 pode ser afetada já no nível transcricional (Vargas et al., 2011). Em um estudo realizado com a população da Eslováquia, foram identificados 4 polimorfismos relacionado ao gene ERVW-1, chamadas de rs4727276, rs148592540, rs569899772 e rs555416193 (Priscakova et al., 2016). Para este estudo, foi eleito o polimorfismo rs4727276 do gene ERVW-1 devido a sua maior frequência na população investigada no estudo de referência. Desta maneira, a relevância desta pesquisa estar na possibilidade de relacionar o polimorfismo do gene ERVW-1 (rs4727276) e a PE em mulheres brasileiras cearenses.

Pensando em uma forma preventiva e terapêutica, o presente estudo poderá contribuir para a elucidação dos mecanismos que controlam a patogênese da PE, caso exista associação do polimorfismo com o gene supracitado. Nesse sentido, aumenta-se a possibilidade de expandir novas estratégias na assistência das pacientes com esse perfil, uma vez que ainda há poucos trabalhos que investigaram a associação de polimorfismos do gene ERVW-1 com os mecanismos da patogênese da PE. Além disso, não há investigações com populações do Brasil, aumentando o destaque à realização dessa pesquisa em mulheres do Nordeste brasileiro.

4 HIPÓTESES

- Polimorfismo do gene ERVW-1 (rs4727276) pode ser associado a achados genéticos de expressão gênica relacionados à pré-eclâmpsia e a achados epidemiológicos e laboratoriais em mulheres da Região Norte do Ceará.
- Polimorfismo do gene ERVW-1 (rs4727276) pode ser considerado um biomarcador molecular na fisiopatologia da pré-eclâmpsia em mulheres da Região Norte do Ceará, no Nordeste Brasileiro, possibilitando a identificação de fatores de risco para a doença.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

Determinar se o polimorfismo do gene ERVW-1 (rs4727276) está associado a patogênese da pré-eclâmpsia.

5.2 Objetivos específicos

- Correlacionar a possível associação do polimorfismo do gene ERVW-1 (rs4727276) com os achados epidemiológicos e laboratoriais das pacientes admitidas na Maternidade Sant'Ana da Santa Casa de Misericórdia de Sobral.
- Identificar a relação entre o polimorfismo do gene ERVW-1 (rs4727276) com a incidência da pré-eclâmpsia em mulheres da região Norte do Ceará admitidas na Maternidade Sant'Ana da Santa Casa de Misericórdia de Sobral.

6 CAPÍTULO 1

Avaliação da associação do polimorfismo do gene ERVW-1 (rs4727276) com a pré-eclâmpsia em mulheres brasileiras

Avaliação da associação do polimorfismo do gene ERVW-1 (rs4727276) com a pré-eclâmpsia em mulheres brasileiras

Gelton Fonteles¹; Lailton Oliveira da Silva¹; Louhanna Pinheiro Rodrigues Teixeira²; José Jackson do Nascimento Costa³; Anderson Weiny Barbalho Silva¹; José Juvenal Linhares¹

¹Universidade Federal do Ceará, Sobral, CE, Brasil.

²Laboratório de Biologia Molecular e do Desenvolvimento, Universidade de Fortaleza, Fortaleza, CE, Brasil.

³Centro Universitário INTA, Sobral, CE, Brasil.

Resumo

Apesar dos avanços da medicina obstétrica, a pré-eclâmpsia (PE) ainda não foi totalmente compreendida. É amplamente sugerido que as causas da PE são pelo menos parcialmente genéticas. Assim, é importante a identificação de biomarcadores moleculares que a detectem, como através dos polimorfismos do gene ERVW-1, relacionado ao processo de placentogênese. Este estudo foi realizado para avaliar a possível associação entre a presença do polimorfismo do gene ERVW-1 (rs4727276) com a PE. Trata-se de um estudo transversal, do tipo caso-controle, quantitativo realizado com 64 mulheres gestantes com PE (casos) e 76 mulheres gestantes normotensas (controles). Utilizou-se um formulário padronizado para coleta de dados demográficos e clínicos, além de amostras de raspagem oral para extração de DNA e subsequente análise genética por RT-qPCR. Os dados sugerem que, como esperado, houve maior índice de massa corporal (IMC) e aumento da pressão arterial em pacientes com PE quando comparado ao Controle. Também se observou aumento significativo nos valores de Linfócitos e na quantificação de Desidrogenase láctica entre o grupo com PE quando comparado ao Controle. Em termos de distribuição genotípica e frequência alélica, foi observado diferença significativa na distribuição do genótipo (CC vs CG+GG/CG vs CC+GG) entre os grupos, indicando uma tendência de maior expressão em PE para os respectivos genótipos. Porém, não apresentou relação com a gravidade da doença ou com a época de surgimento. Conclui-se que o polimorfismo rs4727276 do gene ERVW-1 demonstrou forte associação com a PE em uma população de mulheres do Nordeste brasileiro, podendo ser considerado um biomarcador molecular na fisiopatologia da pré-eclâmpsia, possibilitando a identificação de fatores de risco e/ou uma detecção precoce.

Palavras-chave: Casos clínicos. DNA. Gestação. Genotipagem. Hipertensão.

1 Introdução

A pré-eclâmpsia (PE) é uma doença multifatorial e multissistêmica, que se caracteriza clinicamente pela presença da hipertensão arterial ($\geq 140/90$ mmHg) e proteinúria após a 20^a semana de gestação (Dimitriadis et al., 2023). Também pode-se apresentar PE quando ocorre disfunção de órgãos-alvo, como os rins, fígado e pulmões, mesmo na ausência de proteinúria (Magee, et al. 2022).

Embora a predição entre fatores de risco e o desenvolvimento da PE não seja estabelecida, é possível fazer a distinção entre mulheres de baixo e alto risco de desenvolvimento do distúrbio. Fatores de risco incluem hipertensão prévia, doenças renais, idade de 40 anos ou mais e índice de massa corporal (IMC) (NICE, 2011; Roos et al., 2011; Bramham et al., 2014). Apesar da sua importância clínica, seu tratamento não mudou muito ao longo do tempo e um grande desafio na atualidade é de identificar biomarcadores que detectem a doença.

Diversos fatores estão relacionados a patogênese da PE, dentre eles estão os fatores genéticos. A sincitina 1 é um dos fatores que medeia a fusão das células citotrofoblásticas da placenta com o sinciciotrofoblasto multinucleado e a diferenciação do sincício (Gholami Barzoki et al., 2023; Muir; Lever; Moffett, 2006; Handwerger, 2010). Esse fator é codificado pelo gene ERVW-1. Estudos demonstraram que níveis reduzidos da expressão de sincitina-1 em síndromes placentárias se correlacionam com hipermetilação epigenética da região promotora de ERVW-1, afetando o desenvolvimento do feto e da mãe durante a gravidez (Ruebner et al., 2013). O gene ERVW-1 possui 4 polimorfismos conhecidos (rs4727276, rs148592540, rs569899772 e rs555416193) (Priscakova et al., 2016), porém, parece não haver investigações que discutam a possível associação entre expressão de variantes genéticas (polimorfismos) do gene ERVW-1 com a patogenia da PE no Brasil.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a associação do polimorfismo rs4727276 do gene ERVW-1 com a patogenia de PE em gestantes de uma região do Nordeste brasileiro.

2 Material e métodos

2.1 Aspectos éticos da pesquisa

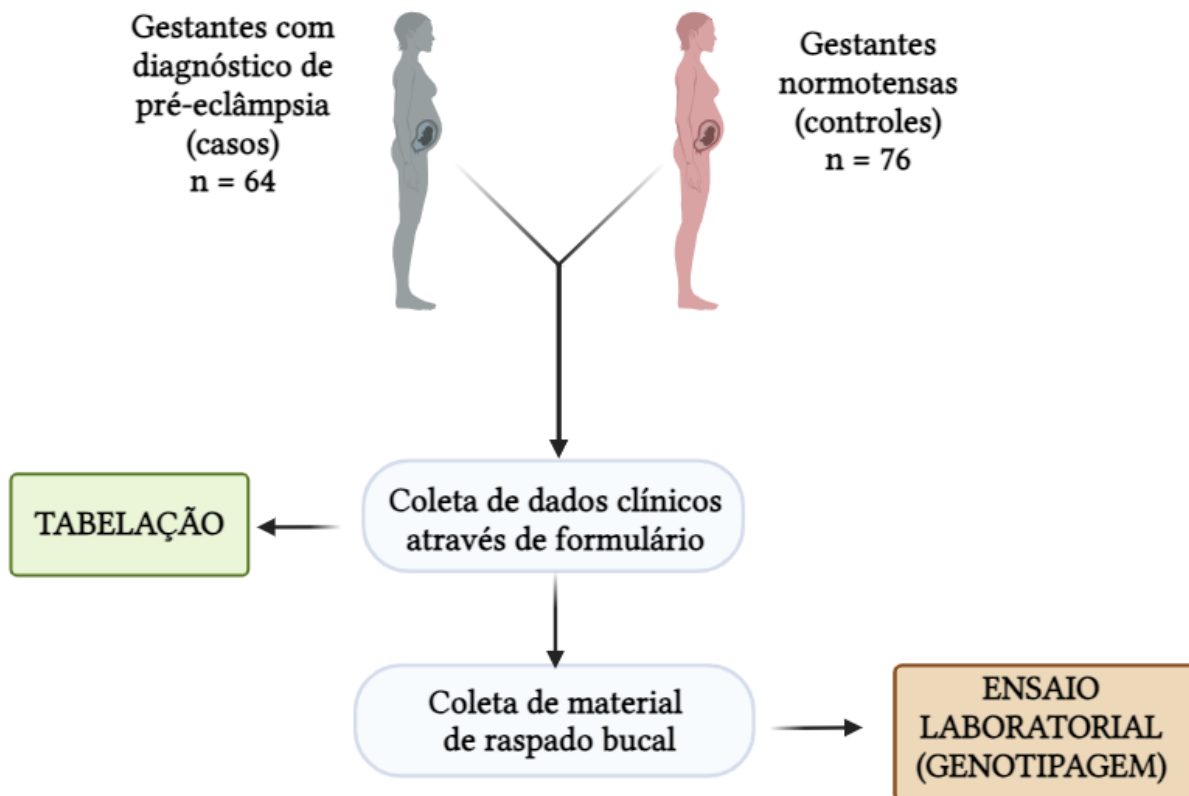
O cuidado ético fundamental do estudo foi manter em sigilo o nome das mulheres envolvidas na pesquisa. Para tanto, cada caso foi identificado no instrumento de coleta de dados apenas pelo número do prontuário, iniciais do nome e número do caso da pesquisa. O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro Universitário INTA (UNINTA) conforme as normas estabelecidas pela Resolução 466/12 do CNS e aprovado sob o número 6.055.778. Além disso, o estudo foi autorizado pela Comissão de Pesquisa do Departamento de Ensino, Pesquisa e Extensão (DEPE) da SCMS. Todos os pacientes assinaram o TCLE, sendo informados dos riscos e benefícios do estudo. O manejo do material biológico foi assistido pela resolução CNS Nº 441 de 12 de maio de 2011, e estritamente utilizado apenas para avaliação genômica que concerne o objetivo deste estudo.

2.2 Desenho e local do estudo

Trata-se de um estudo transversal, do tipo caso-controle, quantitativo. O estudo foi realizado com mulheres gestantes admitidas na Maternidade de Sant'Ana da Santa Casa de Misericórdia de Sobral (SCMS) mediante autorização pela Comissão de Pesquisa do Departamento de Ensino, Pesquisa e Extensão (DEPE) da instituição. O ensaio laboratorial foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular e do Desenvolvimento (LBMD) e no Núcleo de Biologia Experimental (Nubex) – Universidade de Fortaleza (UNIFOR).

O desenho do estudo está disposto na Figura 1 e as etapas estão descritas nos subtópicos seguintes.

Figura 1: Desenho do estudo.



Fonte: elaborada pelo autor.

2.3 População e amostra

O estudo foi realizado com um total de 140 pacientes, sendo 64 mulheres gestantes com PE (casos) e 76 mulheres gestantes normotensas (controles), admitidas na Maternidade Sant'Ana da SCMS. O diagnóstico de PE foi estabelecido de acordo com a Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO, 2018). Para o diagnóstico foi utilizado: (1) PAS \geq 140 mmHg e/ou PAD \geq 90 mmHg, pelo menos, em duas medições, em um intervalo mínimo de 4 horas; (2) proteinúria acima de 300 mg por 24 horas, em amostras isoladas, ou com valor igual ou superior a 1+ pelo método semi-quantitativo de fita (em duas fitas diferentes) ou 2+ em uma fita isolada, conforme o protocolo clínico adotado na maternidade. O grupo controle foi constituído por mulheres gestantes voluntárias normotensas.

2.4 Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão para os casos gestantes PE foram: (1) idade da paciente ≥ 18 anos; (2) idade gestacional ≥ 20 semanas. Foram incluídas ainda as formas graves de PE: sinais clínicos de iminência de eclâmpsia (cefaleia, turvação visual, escotomas, epigastralgia, náuseas e/ou vômitos) ou pico de pressão arterial (PAS ≥ 160 mmHg e/ou PAD ≥ 110), mesmo na ausência de proteinúria.

Os critérios de inclusão para o grupo das gestantes normotensas (controles) foram: (1) idade da paciente ≥ 18 anos e estar no terceiro trimestre de gestação; (2) não apresentar história de hipertensão ou PE; (3) pressão sistólica/diastólica $\leq 120/80$ mmHg.

Os critérios de exclusão, comuns aos dois grupos foram: (1) gestação múltipla; (2) presença de doenças intercorrentes como distúrbios de coagulação, doenças cardiovasculares, doenças renais, doenças autoimunes, doenças hepáticas e câncer; (3) hipertensão crônica e gestacional; (4) diabetes *mellitus* pregressa e gestacional; (5) proteinúria isolada; (6) trombocitopenia; (7) níveis elevados de transaminases sem hipertensão; (8) doenças crônicas e inflamatórias maternas; (9) colestase intra-hepática da gravidez, hepatite e natimorto.

2.5 Coleta de dados

O estudo foi realizado na enfermaria de alto risco da Maternidade Sant'Ana da SCMS, a beira do leito, mediante esclarecimentos sobre o tema e o objetivo da pesquisa e sem prejuízos à assistência, no período de março/2023 a setembro/2023. A participação no estudo ocorreu através de assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE, Anexo A) pelas pacientes, conforme aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa e segundo as normas estabelecidas pela Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

Para a coleta dos dados demográficos e clínicos foi utilizado um formulário padronizado (Apêndice A), permitindo identificar parâmetros como: idade materna, idade gestacional, PAS e PAD, IMC, história anterior de PE e história familiar de PE em ambos os grupos. Os dados de hematócrito (HCT), hemoglobina (Hb), creatinina, ureia, ácido úrico, contagem de glóbulos brancos (WBC), contagem de plaquetas (PLT), transaminase oxalacética (TGO), transaminase pirúvica (TGP), desidrogenase láctica (LDH). Esses

dados foram obtidos pelos resultados dos testes laboratoriais de rotina (de PE). Proteinúria de 24 horas foram obtidos pelo teste da fita urinária. Após coleta e análise dos dados, dois grupos foram formados: (i) PE (Caso) e (ii) Normotensas (Controle).

Após coleta e análise dos dados, dois grupos foram formados com base na gravidade da doença: (i) PE com sinais de gravidade - definida quando apresentou um ou mais dos seguintes critérios: (1) PAS/PAD 160/110 mmHg medida em duas ocasiões com um intervalo de pelo menos 4 horas com proteinúria (≥ 300 mg) na amostra de urina em 24 horas (podendo atingir a faixa nefrótica ou apresentar subvalores associados a outros sintomas de gravidade) ou com valor igual ou superior a 1+ pelo método semiquantitativo de fita (em duas fitas diferentes) ou 2+ em uma fita isolada; (2) sinais clínicos de turvação visual, escotomas, epigastralgia, cefaleia, náuseas e/ou vômitos; (3) níveis elevados de creatinina sérica e transaminases, trombocitopenia, restrição crescimento fetal ou sinais de insuficiência placentária (FEBRASGO, 2018). E em (ii) PE sem sinais de gravidade quando (1) PAS/PAD esteve entre 140-159/90-100 mmHg e com proteinúria (≥ 300 mg) na amostra de urina em 24 horas ou com valor igual ou superior a 1+ no teste de fita (dois deles) ou 2+ em uma fita (FEBRASGO, 2018; Zugaib; Pulcineli, 2016), sem os demais critérios de gravidade definidos acima. Considerou-se a PE de surgimento precoce quando os sinais e sintomas característicos foram evidenciados em idade gestacional < 34 semanas e tardia quando ≥ 34 semanas (FEBRASGO, 2018).

Para obtenção do DNA genômico e avaliação do polimorfismo do gene ERVW-1 foram colhidas amostras de raspado bucal com a utilização de *cytobrush*®. As amostras foram acomodadas em tubos identificados e armazenadas a -80 °C até posterior avaliação da expressão gênica por Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa em Tempo Real (RT-qPCR).

2.6 Ensaio laboratorial

2.6.1 Extração de DNA

A extração do DNA foi realizada utilizando o PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific - K182002), seguindo protocolo do fabricante. Em um tubo de 1,5 mL foi misturado 50 μ L de saliva com 50 μ L de tampão de lise. As amostras foram aquecidas a 95 °C por 3 minutos. Em seguida, foram mantidas a temperatura ambiente

por 1 minuto e adicionado 50 μL de solução tampão estabilizante. O material foi centrifugado por 1 minuto a 10.000 rpm em temperatura ambiente e em seguida a concentração de DNA em cada amostra foi quantificada utilizando-se o kit Quibit® dsDNA Assays Broad Range (Promega). O material genético obtido foi genotipado utilizando a técnica RT-qPCR.

2.6.2 Reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (RT-qPCR)

O método de RT-qPCR foi usado para a determinação do polimorfismo do gene ERVW-1 (rs4727276). A metodologia utiliza fluoróforos do tipo *TaqMan*®, que correspondem a sondas de hibridização utilizadas para detectar sequências específicas no DNA amplificado na PCR. Para as PCR de genotipagem, foram utilizadas placas de 96 poços em um volume total de 10 μL /poço. Cada reação foi preparada contendo 5 μL Mix Master de Genotipagem *TaqMan*™ (ThermoFisher Scientific- 4371355), 0,25 μL *TaqMan*™ SNP humano (ThermoFisher Scientific [rs4727276]), 2 μL DNA genômico a 1,5 ng/ μL e 2,75 μL H_2O ultrapura. O reagente *TaqMan*™ *Genotyping Master Mix* (ThermoFisher Scientific- 4371355) é composto por *AmpliTaq*® *Fast DNA Polymerase*, UP, dNTPs, *Tracking Dye* e *ROX*™ *dye*. O reagente *TaqMan*™ *human SNP Genotyping Assay* (ThermoFisher Scientific [rs4727276]) é composto por um par de iniciadores (primers) não marcados (concentração final de reação 900 nM) e as sondas fluorescentes: *Applied Biosystems*™ *VIC*™ *dye – MGB* para o alelo A e *Applied Biosystems*™ *FAM*™ *dye – MGB* para o alelo G (concentração final de reação 200 nM).

Após o preparo do *mix* de reação e da placa com as amostras específicas, estas foram pré-lidas em um termociclador de PCR em Tempo Real *Step One Plus* (Applied Biosystems). Após a pré-leitura, os ciclos termais foram realizados para amplificação das amostras de DNA para a genotipagem das pacientes. Ao final, foi realizada uma pós-leitura (da qual foram descontados os valores iniciais de fluorescência em cada amostra) para a discriminação alélica. A distribuição genotípica envolveu 3 formas de variantes: homocigoto (CC), heterocigoto (CG) e homocigoto (GG). Cada genótipo foi avaliado sob modelos de hereditariedade genética (dominantes, recessivos e codominantes).

2.7 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o SigmaPlot® versão 11.0 (SYSTAT). O teste de Shapiro-Wilk foi feito para analisar a distribuição normal dos dados. Os dados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.M) ou mediana com auxílio do Teste t (paramétricos) ou Mann-Whitney (não paramétricos), para comparar os valores de parâmetros demográficos entre os grupos PE e controle, e parâmetros bioquímicos e hematológicos de mulheres com PE. O Teste Qui-quadrado ou Teste exato de Fisher foi necessário para comparar a distribuição de genótipos e frequência de alelos em todos os grupos. A abordagem do risco relativo foi feita pela avaliação do “*odds ratio*” (OR) por regressão logística contemplando um intervalo de confiança (IC) de 95% de certeza. Um valor de $p \leq 0,05$ foi considerado como estatisticamente significativo.

3 Resultados

Foram incluídas no estudo 140 mulheres, sendo 64 gestantes com PE e 76 gestantes saudáveis, genotipadas para a presença do polimorfismo rs4727276. Parâmetros clínicos estão resumidos na Tabela 1. Observou-se diferença estatisticamente significativa entre pacientes com PE e controles em relação à índice de massa corporal ($p \leq 0,000008$). Como previsto, as médias das pressões arteriais sistólica e diastólica foram significativamente maiores nas mulheres com PE ($140.00 \pm 20.70 / 83.33 \pm 13.45$) quando comparadas àquelas do grupo controle ($113.00 \pm 9.23 / 73.50 \pm 8.75$) ($p = 0,00001$ e $p = 0,013$, respectivamente). Essa tendência não foi observada nas demais variáveis.

Tabela 1. Características gerais das pacientes incluídas no estudo.

Variáveis	Controles (n = 76)	Casos (n = 64)	p - valor
Idade materna	26.60 \pm 5.87	27.94 \pm 6.26	0,229
Idade gestacional	33.43 \pm 3.50	33.13 \pm 3.90	0,646
IMC	28.49 \pm 5.11	33.04 \pm 5.65	0,000008*

PAS	113.00±9.23	140.00±20.70	0,00001*
PAD	73.50±8.75	83.33±13.45	0,013*
Gestações (N)	1	1	0,424
Paridade (N)	1	1	0,484

* $p \leq 0,05$ é considerado significativo.

Os parâmetros hematológicos e bioquímicos no grupo PE estão apresentados na Tabela 2 e distribuídos de acordo com os grupos estudados (Casos e Controles). Observou-se diferença estatisticamente significante nos valores de Linfócitos e na quantificação de Desidrogenase láctica entre o grupo com PE (Casos) e Controle ($p = 0,009$; $p = 0,016$, respectivamente). Não houve diferença estatística entre os demais parâmetros hematológicos e bioquímicos analisados.

Tabela 2. Alguns parâmetros hematológicos e bioquímicos incluídos no estudo.

Variáveis	Controles (n = 76)	Casos (n = 64)	<i>p</i> -valor
Hemoglobina	11.97±1.43	1160.01±7169.42	0,224
Hematócrito	35.70±4.76	35.89±4.71	0,852
Leucócitos	0.38±0.96	0.88±1.25	0,323
Plaquetas	223878±50929	243571±100283	0,269
Linfócitos	12.83±4.17	20.14±6.64	0,009*
Creatinina	0.74±0.11	0.81±0.34	0,591
Ureia	17.93±6.23	20.36±8.63	0,454
Ácido úrico	2.80±1.56	3.96±1.31	0,235
Desidrogenase láctica	300.23±151.72	573.63±208.47	0,016*

* $p \leq 0,05$ é considerado significativo.

A distribuição genotípica e a frequência alélica do polimorfismo rs4727276 em gestantes com PE e controles são mostradas na Tabela 3. Foi observado diferença significativa na distribuição do genótipo (CC vs CG+GG/CG vs CC+GG) do polimorfismo rs4727276 do gene ERVW-1 entre os grupos PE e Controle ($p = 0,011$; $p = 0,05$, respectivamente), indicando uma tendência de maior risco de PE para os respectivos genótipos. Além disso, houve diferença significativa nas frequências alélicas entre os grupos (G vs C, $p = 0,039$).

Tabela 3. Distribuição dos genótipos e alelos do polimorfismo rs4727276 nos grupos PE (Casos) e Controle.

Genótipos (rs4727276)	Controles (n = 76)	Casos (n = 64)	p-valor
CC	31(47.7%)	42(70.0%)	(CC vs CG+GG) $p = 0,011^*$
CG	27(41.5%)	15(25.0%)	(CG vs CC+GG) $p = 0,05^*$
GG	7(10.8%)	3(5.0%)	(GG vs CG+CC) $p = 0,235$
Alelos	Controles (n = 76)	Casos (n = 64)	
C	58 (89,2%)	57 (95%)	(G vs C) $p = 0,039^*$
G	34 (52,3%)	18 (30%)	

* $p \leq 0,05$ é considerado significativo.

A distribuição genotípica do polimorfismo rs4727276 em gestantes com PE Leve e Grave ou Precoce e Tardia são mostradas na Tabela 4. Em termos de severidade, nenhuma diferença significativa entre a distribuição de genótipos e o grau da doença foi observada (Leve ou Grave). Além disso, também não foi observada diferença significativa entre a época do surgimento da doença (Precoce ou Tardia).

Tabela 4. Distribuição dos genótipos do polimorfismo rs4727276 em pacientes com PE Leve e Grave ou Precoce e Tardia.

Genótipos (rs4727276)	PE Leve (n = 10)	PE Grave (n = 4)	p-valor	PE Precoce (n = 33)	PE Tardia (n = 21)	p-valor
CC	9(81.8%)	2(18.2%)	(CC vs CG+GG) p = 0,176	25(64.1%)	14(35.9%)	(CC vs CG+GG) p = 0,467
CG	1(33.3%)	2(66.7%)	(CG vs CC+GG) p = 0,176	7(58.3%)	5(41.7%)	(CG vs CC+GG) p = 1,000
GG	0(0.0%)	0(0.0%)	(GG vs CG+CC) p = 0,553	1(33.3%)	2(66.7%)	(GG vs CG+CC) p = 0,553

*p ≤ 0,05 é considerado significativo.

4 Discussão

Este estudo é pioneiro em avaliar a associação do polimorfismo rs4727276 do gene ERVW-1 com a patogênese da pré-eclâmpsia em mulheres do Brasil. O gene ERVW-1, localizado no locus de cromossomo humano 7q21.2, é responsável por codificar a sincitina 1, um dos fatores que medeiam a fusão das células citotrofoblásticas da placenta com o sinciciotrofoblasto multinucleado. No mais, a alta expressão da sincitina 1 está associada à placentação normal (Gholami Barzoki et al., 2023; Handwerger, 2010). Nesse sentido, as evidências sugerem que níveis reduzidos de sincitina-1 se correlacionam com hipermetilação epigenética da região promotora de ERVW-1 afetando a placentogênese, o desenvolvimento do feto e da mãe durante a gravidez e com o desenvolvimento e a gravidade da PE (Ruebner et al., 2013; Knerr; Beinder; Rascher, 2002).

A PE é uma síndrome multissistêmica que pode acontecer durante a gravidez, e é tradicionalmente diagnosticada quando a mulher apresenta surgimento ou aumento da pressão arterial e presença de proteinúria. Nesse estudo, como já previsto, as médias das pressões arteriais sistólica e diastólica foram significativamente maiores nas mulheres com PE quando comparadas àquelas do grupo controle (p = 0,00001 e p = 0,013, respectivamente). O quadro hipertensivo na PE pode ser relacionado à isquemia placentária e disfunção endotelial e desbalanço de fatores inflamatórios, resultando em disfunção endotelial e aumento da resistência vascular periférica (Gilbert, 2008).

Embora a predição entre fatores de risco associados ao desenvolvimento da PE não seja bem estabelecida, a distinção entre mulheres de baixo e alto risco é possível. Fatores de risco moderados incluem índice de massa corporal (IMC) de 35 kg/m² (NICE, 2011; Roos et al., 2011). Nesse estudo, observou-se diferença estatisticamente significativa entre pacientes com PE e controles em relação ao IMC ($p \leq 0,000008$), indicando que as pacientes diagnosticadas com a PE na amostragem deste estudo apresentavam IMC superior em relação às pacientes normotensas. Um grande estudo internacional de referência descreve diversos fatores de riscos associados à predição de PE e, entre eles, inclui o IMC como parâmetro para o modelo final de predição da doença (Kenny et al., 2014).

Neste estudo, observou-se diferença estatisticamente significativa nos valores de Linfócitos e na quantificação de Desidrogenase láctica (LDH) entre o grupo com PE (Casos) e Controle ($p = 0,009$; $p = 0,016$, respectivamente), indicando maior quantidade dessas variáveis em pacientes com PE. Apesar dos parâmetros hematológicos não serem unicamente aceitos como preditivos ou marcadores para PE, a quantidade mais elevada de linfócitos nas pacientes com PE pode ser um indicativo de estado inflamatório/imune, como já avaliado em outro estudo (Wang et al., 2019). O LDH é um marcador bioquímico que reflete a gravidade e a ocorrência de complicações da PE. Estudos mostram que pacientes pré-eclâmpticos graves apresentam aumento significativo dos níveis de LDH, além de serem mais elevados em mulheres com PE e eclâmpsia, correlacionando-se com pressão arterial elevada, que é um sintoma comum em pacientes com a doença (Qublan et al., 2005; Jaiswar et al., 2011).

Diversos estudos têm investigado a relação de polimorfismo de genes com a PE (Guan et al., 2021), porém há poucos investigando a associação de polimorfismos do gene ERVW-1. Neste estudo, foi observado diferença significativa na distribuição do genótipo (CC vs CG+GG/CG vs CC+GG) do polimorfismo rs4727276 do gene ERVW-1 entre os grupos PE e Controle ($p = 0,011$; $p = 0,05$, respectivamente), indicando uma tendência de maior risco de PE para esses genótipos. Além disso, houve diferença significativa nas frequências alélicas entre os grupos (G vs C, $p = 0,039$). Este é um forte indício da associação entre o genótipo CC e CG e o alelo A com o polimorfismo do gene ERVW-1 (rs4727276) na presença de PE da amostra estudada em mulheres do Nordeste brasileiro.

O polimorfismo rs4727276 do gene ERVW-1 foi inicialmente identificado e relacionado à PE em uma amostragem de uma população europeia (Priscakova et al.,

2016). Porém, no estudo citado, não foi observada relação entre esse polimorfismo e a PE. A divergência entre o estudo citado e os dados encontrados nesta investigação podem estar relacionadas à heterogeneidade genética entre as populações e os fatores ambientais associados, como variações geográficas e fatores epigenéticos. Acredita-se que a PE resulte de uma complexa interação entre componentes genéticos e fatores ambientais (Buurma et al., 2013). Além disso, a prevalência de PE difere entre vários grupos étnicos (Stegers et al., 2010).

5 Conclusão

O polimorfismo rs4727276 do gene ERVW-1 demonstrou associação com a PE em uma população de mulheres do Nordeste brasileiro. Porém, não apresentou relação com a gravidade da doença ou com a época de surgimento. Apesar disso, pode ser considerado um biomarcador molecular na fisiopatologia da pré-eclâmpsia em mulheres, possibilitando a identificação dos fatores de risco para a doença e uma detecção precoce.

Referências

- Bramham, K., Parnell, B., Nelson-Piercy, C., Seed P.T., Poston L., Chappell L.C. Chronic hypertension and pregnancy outcomes: systematic review and meta-analysis. **BMJ**, v. 348, p. 2301, 2014.
- Buurma, A.J., Turner, R.J., Driessen, J.H., Mooyaart, A.L., Schoones, J.W., Bruijn, J.A., Bloemenkamp, K.W., Dekkers, O.M., Baelde, H.J. Genetic variants in pre-eclampsia: a meta-analysis. **Hum Reprod Update**, May-Jun, v. 19, n. 3, p. 289-303, 2013.
- Dimitriadis, E., Rolnik, D.L., Zhou, W., Estrada-Gutierrez, G., Koga, K., Francisco, R.P.V., Whitehead, C., Hyett, J., da Silva Costa F., Nicolaides, K., Menkhorst, E. Author Correction: Pre-eclampsia. **Nature Reviews: Disease Primers**. v. 9, n. 1, p. 35, 2023.
- Federação Brasileira Das Associações De Ginecologia E Obstetrícia (FEBRASGO). **Pré-eclâmpsia nos seus diversos aspectos**. São Paulo: 2018. Série Orientações e Recomendações FEBRASGO. n. 9, 2018.
- Gholami Barzoki, M., Shatizadeh Malekshahi, S., Heydarifard, Z., Mahmodi, M.J., Soltanghorae, H. The important biological roles of Syncytin-1 of human endogenous

retrovirus W (HERV-W) and Syncytin-2 of HERV-FRD in the human placenta development. **Molecular Biology Reports**, v. 50, n. 9, p. 7901-7907, 2023.

Gilbert, J.S., Ryan, M.J., LaMarca, B.B., Sedeek, M., Murphy, S.R., Granger, J.P. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: linking placental ischemia with endothelial dysfunction. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 294, n. 2, p. H541-H550, 2008.

Guan, C., Zhao, F., Yang, Z., Tang, Q., Wang, L., Li, X., Zhang, L., Deng, Z., Hou, H., Wang, J., Xu, Y., Zhang, R., Lin, Y., Tan, P., Zhang, Y., Liu, S., Zhang, L. A review of key cytokines based on gene polymorphism in the pathogenesis of pre-eclampsia. **Am J Reprod Immunol**. v.87, n.1, e13503, 2022.

Handwerger, S. New insights into the regulation of human cytotrophoblast cell differentiation. **Mol Cell Endocrinol**, v. 323, p. 94-104, 2010.

Jaiswar SP, Gupta A, Sachan R, Natu SN, Shaili M. Desidrogenase láctica: um marcador bioquímico para pré-eclâmpsia-eclâmpsia. **J Obstet Gynaecol Índia**. v.61, n.6, p. 645-8, 2011.

Kenny, L.C., Black, M.A., Poston, L., Taylor, R., Myers, J.E., Baker, P.N., McCowan, L.M., Simpson, N.A., Dekker, G.A., Roberts, C.T., Rodems, K., Noland, B., Raymundo, M., Walker, J.J., North, R.A. Early pregnancy prediction of preeclampsia in nulliparous women, combining clinical risk and biomarkers: the Screening for Pregnancy Endpoints (SCOPE) international cohort study. **Hypertension**, v. 64, p. 644-52, 2014.

Knerr, I., Beinder, E., Rascher, W. Syncytin, a novel human endogenous retroviral gene in human placenta: Evidence for its dysregulation in preeclampsia and HELLP syndrome. **Am J of Obstet Gynecol**, v. 186, p. 210-213, 2002.

Magee, L.A., Brown, M.A., Hall, D.R., Gupte, S., Hennessy, A., Karumanchi, S.A., Kenny, L.C., McCarthy, F., Myers, J., Poon, L.C., Rana, S., Saito, S., Staff, A.C., Tsigas, E., von Dadelszen P. The 2021 International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy classification, diagnosis & management recommendations for international practice. **Pregnancy hypertension**, v. 27, p. 148-169, 2022.

Muir, A; Lever, AML, Moffett A. Human endogenous retrovirus-W envelope (syncytin) is expressed in both villous and extravillous trophoblast populations. **J Gen Virol**, v. 87, p. 2067-2071, 2006.

National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE). Hypertension in pregnancy. NICE clinical guideline 107. London: RCOG Press, 2011.

Qublan, H.S., Ammarin, V., Bataineh, O., Al-Shraideh, Z., Tahat, Y., Awamleh, I., Khreisat, B., Nussair, B., Amarin, Z.O. Lactic dehydrogenase as a biochemical marker of adverse pregnancy outcome in severe pre-eclampsia. **Med Sci Monit**. v.11, n.8, 2005.

Roos, N., Kiele, H., Sahlin, L., Ekman-Ordeberg, G., Falconer, H., Stephansson, O. Risk of adverse pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome: population based cohort study. **BMJ**, v. 343, p. d6309, 2011.

Ruebner, M., Strissel, P.L., Ekici, A.B., Stiegler, E., Dammer, U., Goecke, T.W., Faschingbauer, F., Fahlbusch, F.B., Beckmann, M.W., Strick, R. Reduced syncytin-1 expression levels in placental syndromes correlates with epigenetic hypermethylation of the ERVW-1 promoter region. **PLoS One**, v. 8, n. 2, p. 56145, 2013.

Wang, J., Zhu, Q.W., Cheng, X.Y., Liu, J.Y., Zhang, L.L., Tao, Y.M., Cui, Y.B., Wei, Y. Assessment efficacy of neutrophil-lymphocyte ratio and monocyte-lymphocyte ratio in preeclampsia. **J Reprod Immunol**, v.132, p. 29-34, 2019.

7 CONCLUSÕES GERAIS

Esta pesquisa foi pioneira em mostrar a relação do polimorfismo rs4727276 do gene ERVW-1 em pacientes com PE de uma população brasileira, mais especificamente de uma região do Nordeste do país. Os dados obtidos servem de suporte e contribuem para compreender os mecanismos genéticos relacionados à patogenia dessa doença, considerando que ainda não foi totalmente compreendida. Além disso, mostra-se importante para pesquisas futuras na identificação de marcadores genéticos, uma vez que parte da doença possui envolvimento genético direto.

Apesar da importância e impacto dos achados dessa pesquisa para o entendimento da e patogenia e marcadores moleculares da PE, este estudo incluiu apenas uma pequena amostra populacional, sendo importante estudos adicionais e análises futuras com amostras maiores e em populações de outras regiões do Brasil e de outros países.

REFERÊNCIAS

- American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) PRACTICE BULLETIN N°. 202: Gestational hypertension and preeclampsia. **Obstet Gynecol**, v. 133, n. 1, p. e1-e25, 2020.
- Arngrimsson, R., Bjornsson H., Gelrason R.T. Analysis of difference inheritance patterns in preeclampsia/eclampsia syndrome. **Hypertens Preg**, v. 4, p. 27-38, 1995.
- Belay, A. S., Wudad, T. Prevalence and associated factors of pre-eclampsia among pregnant women attending anti-natal care at Mettu Karl referral hospital, Ethiopia: cross-sectional study. **Clinical hypertension**, v. 25, n. 1, p. 14, 2019.
- Bhering, N.B.V., Matias, I.S., Lommez, I.M.M., Madrona, J.D.M., de Melo, J.K.A., Casteletti, J. B., Clark, J.G.A., Peixoto, K.A., Oliveira, K.L., Costa, T.M.M. A Síndrome Semelhante a Pré-eclâmpsia induzida pela COVID-19: Uma Revisão da Literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 2, p. 4493-4507 mar./apr. 2021.
- Bramham, K., Parnell, B., Nelson-Piercy, C., Seed P.T., Poston L., Chappell L.C. Chronic hypertension and pregnancy outcomes: systematic review and meta-analysis. **BMJ**, v. 348, p. 2301, 2014.
- Bu, C., Wang, Z., Ren, Y., Chen, D., Jiang, S.W. Syncytin-1 nonfusogenic activities modulate inflammation and contribute to preeclampsia pathogenesis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 79, n. 6, p. 290, 2022.
- Buurma, A.J., Turner, R.J., Driessen, J.H., Mooyaart, A.L., Schoones, J.W., Bruijn, J.A., Bloemenkamp, K.W, Dekkers, O.M., Baelde, H.J. Genetic variants in pre-eclampsia: a meta-analysis. **Hum Reprod Update**, May-Jun, v. 19, n. 3, p. 289-303, 2013.
- Chandra, S., Tripathi, A.K., Mishra, S., Amzarul, M., Vaish, A.K. Physiological changes in hematological parameters during pregnancy. **Indian J Hematol Blood Transfus**, v. 28, n. 3, p. 144-6, 2012.
- Chang, K.J., Seow, K.M., Chen, K.H. Preeclampsia: Recent Advances in Predicting, Preventing, and Managing the Maternal and Fetal Life-Threatening Condition. **Int J Environ Res Public Health**, v. 20, n. 4, 2023.
- Cooper, D.W., Brennecke S.P., Wilton A.N. Genetics of pre-eclampsia. **Hypertens Preg**, v. 12, p. 1-23, 1993.
- Cunha, V.M.D.P., Grecco, R.L.D.S., Paschoini, M.C., Silva, S.R.D., Ruiz, M.T., Balarin, M.A.S. Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in pre-eclampsia. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. v. 33, n. 7, p. 158-63, 2011.

De Alwis, N., Binder, N.K, Hannan, N.J. Pre-eclampsia: Challenges for nanomedicine development in pregnancy. **Trends in Molecular Medicine**, v. 27, n. 8, p. 824-825, 2021.

Dias, J.M.G., Oliveira, A.P.S.D., Cipolotti, R., Monteiro, B.K.S.M., Pereira, R.D.O. Mortalidade materna. **Rev. Med Minas Gerais**, v. 25, n. 2, p. 173-179, 2015.

Dimitriadis, E., Rolnik, D.L., Zhou, W., Estrada-Gutierrez, G., Koga, K., Francisco, R.P.V., Whitehead, C., Hyett, J., da Silva Costa F., Nicolaides, K., Menkhorst, E. Author Correction: Pre-eclampsia. **Nature Reviews: Disease Primers**. v. 9, n. 1, p. 35, 2023.

Esplin, M.S., Fausett, M.B., Fraser, A., Kerber, R., Mineau, G., Carrillo, J., Varner, M.W. Paternal and maternal components of the predisposition to preeclampsia. **New England Journal of Medicine**, v. 344, p. 867-872, 2001.

Federação Brasileira Das Associações De Ginecologia E Obstetrícia (FEBRASGO). **Pré-eclâmpsia nos seus diversos aspectos**. São Paulo: 2018. Série Orientações e Recomendações FEBRASGO. n. 9, 2018.

Ferrazzi, E., Stampalija, T., Monasta, L., Di Martino, D., Vonck, S., & Gyselaers, W. Maternal hemodynamics: a method to classify hypertensive disorders of pregnancy. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 218, n. 1, p. 124, 2017.

Garg, A.X., Nevis, I.F., McArthur, E., Sontrop, J.M., Koval, J.J., Lam, N.N., Hildebrand, A.M., Reese, P.P., Storsley, L., Gill, J.S., Segev, D.L., Habbous, S., Bugeja, A., Knoll, G.A., Dipchand, C., Monroy-Cuadros, M., Lentine, K.L. Gestational hypertension and preeclampsia in living kidney donors. **N Engl J Med**, v. 372, p. 124-33, 2015.

Gautam, M., Ahmed, A., Mishra, P., Azim, A., Ahmad, A., Dandu, H., Agrawal, A., Atam, V., Jaiswar, S. P. Maternal Mortality due to Pregnancy-Related Acute Kidney Injury (PRAKI); A Study of the Epidemiological Factors and Possible Solutions. **The Journal of Obstetrics and Gynecology of India**, p. 1-9, 2024.

Gholami Barzoki, M., Shatizadeh Malekshahi, S., Heydarifard, Z., Mahmodi, M.J., Soltanghoreae, H. The important biological roles of Syncytin-1 of human endogenous retrovirus W (HERV-W) and Syncytin-2 of HERV-FRD in the human placenta development. **Molecular Biology Reports**, v. 50, n. 9, p. 7901-7907, 2023.

Gilbert, J.S., Ryan, M.J., LaMarca, B.B., Sedeek, M., Murphy, S.R., Granger, J.P. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: linking placental ischemia with endothelial dysfunction. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 294, n. 2, p. H541-H550, 2008.

Handwerger, S. New insights into the regulation of human cytotrophoblast cell differentiation. **Mol Cell Endocrinol**, v. 323, p. 94-104, 2010.

- Hansen, A.R., Barnés, C.M., Folkman, J., McElrath, T.F. Maternal preeclampsia predicts the development of bronchopulmonary dysplasia. **The Journal of pediatrics**, v. 156, p. 532-36, 2010.
- Huang, Q., Chen, H., Li, J., Oliver, M., Ma, X., Byck, D., Gao, Y., Jiang, S.W. Epigenetic and non-epigenetic regulation of syncytin-1 expression in human placenta and cancer tissues. **Cell Signal**. v. 26, n. 12, p. 648-56, 2014.
- Jaiswar SP, Gupta A, Sachan R, Natu SN, Shaili M. Desidrogenase láctica: um marcador bioquímico para pré-eclâmpsia-eclâmpsia. **J Obstet Gynaecol Índia**, v.61, n.6, p. 645-8, 2011.
- Kamrani, A., Alipourfard, I., Ahmadi-Khiavi, H., Yousefi, M., Rostamzadeh, D., Izadi, M., Ahmadi, M. The role of epigenetic changes in preeclampsia. **Biofactors**, v.45, n. 5, p. 712-724, 2019.
- Kenny, L.C., Black, M.A., Poston, L., Taylor, R., Myers, J.E., Baker, P.N., McCowan, L.M., Simpson, N.A., Dekker, G.A., Roberts, C.T., Rodems, K., Noland, B., Raymundo, M., Walker, J.J., North, R.A. Early pregnancy prediction of preeclampsia in nulliparous women, combining clinical risk and biomarkers: the Screening for Pregnancy Endpoints (SCOPE) international cohort study. **Hypertension**, v. 64, p. 644-52, 2014.
- Kleinrouweler, C.E., Wiegerinck, M.M., Ris-Stalpers, C., Bossuyt, P.M., van der Post, J.A., von Dadelszen, P., Mol, B.W., Pajkrt, E.; EBM CONNECT Collaboration. Accuracy of circulating placental growth factor, vascular endothelial growth factor, soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in the prediction of pre-eclampsia: a systematic review and meta-analysis. **BJOG**, v. 119, p. 778-87, 2012.
- Knerr, I., Beinder, E., Rascher, W. Syncytin, a novel human endogenous retroviral gene in human placenta: Evidence for its dysregulation in preeclampsia and HELLP syndrome. **Am J of Obstet Gynecol**, v. 186, p. 210-213, 2002.
- Konijnenberg, A., Stokkers, E.W., van der Post, J.A., Schaap, M.C., Boer, K., Bleker, O.P., Sturk, A. Extensive platelet activation in preeclampsia compared with normal pregnancy: enhanced expression of cell adhesion molecules. **Am J Obstet Gynecol**, v. 176, n. 2, p. 4619, 1997.
- Magee, L.A., Brown, M.A., Hall, D.R., Gupte, S., Hennessy, A., Karumanchi, S.A., Kenny, L.C., McCarthy, F., Myers, J., Poon, L.C., Rana, S., Saito, S., Staff, A.C., Tsigas, E., von Dadelszen P. The 2021 International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy classification, diagnosis & management recommendations for international practice. **Pregnancy hypertension**, v. 27, p. 148-169, 2022.
- Muir, A; Lever, AML, Moffett A. Human endogenous retrovirus-W envelope (syncytin) is expressed in both villous and extravillous trophoblast populations. **J Gen Virol**, v. 87, p. 2067-2071, 2006.
- Myatt, L., Clifton, R.G., Roberts, J.M., Spong, C.Y., Wapner, R.J., Thorp, J.M. Jr., Mercer, B.M., Peaceman, A.M., Ramin, S.M., Carpenter, M.W., Sciscione, A., Tolosa,

J.E., Saade, G., Sorokin, Y., Anderson, G.D., Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. Can changes in angiogenic biomarkers between the first and second trimesters of pregnancy predict development of pre-eclampsia in a low-risk nulliparous patient population? **BJOG**, v. 120, p. 83-91, 2013.

National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE). Hypertension in pregnancy. NICE clinical guideline 107. London: RCOG Press, 2011.

Nilsson, E., Salonen Ros, H., Cnattingius, S., Lichtenstein, P. The importance of genetic and environmental effects for pre-eclampsia and gestational hypertension: a family study. **BJOG**, v. 111, p. 200-206, 2004.

North, R.A., McCowan, L.M., Dekker, G.A., Poston, L., Chan, E.H., Stewart, A.W., Black, M.A., Taylor, R.S., Walker, J.J., Baker, P.N., Kenny, L.C. Clinical risk prediction for pre-eclampsia in nulliparous women: development of model in international prospective cohort. **BMJ**, v. 342, p d1875, 2011.

Oliveira, T. S. **Polimorfismo genéticos associados à pré-eclâmpsia: tendências na produção científica/Túlio Sérgio de Oliveira**. Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Programa de Pós-Graduação Stricto Senso em Genética. Goiânia, 2016.

Parham P. NK cells and trophoblasts: partners in pregnancy. **The Journal of experimental medicine**, v. 200, n. 8, p. 951-955, 2004.

Pissetti, C. W., Bianco, T. M., Tanaka, S. C. S. V., Nascentes, G. A. N., Grecco, R. L. D. S., Silva, S. R. D., & Balarin, M. A. S. Papel protetor do alelo G do polimorfismo no gene Interleucina 10 (-1082G/A) contra o desenvolvimento de pré-eclâmpsia. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. São Paulo, v. 36, n. 10, p. 456-460, 2014.

Portelli, M.; Baron, B. Clinical Presentation of Preeclampsia and the Diagnostic Value of Proteins and Their Methylation Products as Biomarkers in Pregnant Women with Preeclampsia and Their Newborns. **Journal of Pregnancy**, 2018.

Priscakova, P., Konkolova, J., Petrovic, R., Lipov, J., Minarik, G., Bohmer, D., Repiska, V., Gbelcova, H. ERVW-1 gene polymorphisms related to preeclampsia. **Bratisl Med J**. v. 117, n. 6, p. 340-44, 2016.

Qublan, H.S., Ammarin, V., Bataineh, O., Al-Shraideh, Z., Tahat, Y., Awamleh, I., Khreisat, B., Nussair, B., Amarin, Z.O. Lactic dehydrogenase as a biochemical marker of adverse pregnancy outcome in severe pre-eclampsia. **Med Sci Monit**. v.11, n.8, 2005.

Reis, Z.S.N., Lage, E.M., Teixeira, P.G., Porto, L.B., Guedes, L.R., Oliveira, É.C.L.D., Cabral, A.C.V. Pré-eclâmpsia precoce e tardia: uma classificação mais adequada para o prognóstico materno e perinatal? **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 32, n. 12, p. 584-90, 2010.

Roberts, J.M.; Bell, M.J. If we know so much about preeclampsia, why haven't we cured the disease? **J Reprod Immunol**, v. 99, p. 1-9, 2013.

Romero, J. P., Huerta, D., Acosta, O., Cabrera, S., Vargas, M. Polimorfismo en el gen del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y su asociación con la preeclampsia. **Anales de la Facultad de Medicina**, v. 75, n. 2, p. 119-123, 2014.

Roos, N., Kiele, H., Sahlin, L., Ekman-Ordeberg, G., Falconer, H., Stephansson, O. Risk of adverse pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome: population based cohort study. **BMJ**, v. 343, p. d6309, 2011.

Ruebner, M., Strissel, P.L., Ekici, A.B., Stiegler, E., Dammer, U., Goecke, T.W., Faschingbauer, F., Fahlbusch, F.B., Beckmann, M.W., Strick, R. Reduced syncytin-1 expression levels in placental syndromes correlates with epigenetic hypermethylation of the ERVW-1 promoter region. **PLoS One**, v. 8, n. 2, p. 56145, 2013.

Sánchez, A. Z. A., Ponce, V. A. A., Benítez, F. D. M. Caracterización de las pacientes con síndrome HELLP. **Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología**, v. 42, n. 4, p. 443-450, 2016.

Stegers, E. A., Von Dadelszen, P., Duvekot, J. J., Pijnenborg, R. Pre-eclampsia. **Lancet**, v. 376, p. 631-644, 2010.

Strand, K.M., Heimstad, R., Iversen, A.C., Austgulen, R., Lydersen, S., Andersen, G.L., Irgens, L.M., Vik, T. Mediators of the association between pre-eclampsia and cerebral palsy: population based cohort study. **BMJ**, v. 347, p. f4089, 2013.

Sun, W., Xu, Y., Xin, Q., Zhang, Y., Cui, B., Hong, F. Association between polymorphism in Cyclophilin A gene and its serum and placental expression in Han Chinese women with severe preeclampsia. **Pregnancy Hypertens**, v. 15, p. 84-92, 2019.

Teimoori, B., Moradi-Shahrehabak, M., Rezaei, M., Mohammadpour-Gharehbagh, A., Salimi, S. Renalase rs10887800 polymorphism is associated with severe pre-eclampsia in southeast Iranian women. **Journal of cellular biochemistry**, v. 120, n. 3, p. 3277-3285, 2019.

Turner, J. A. Diagnosis and management of pre-eclampsia: an update. **International journal of women's health**, v. 2, p. 327, 2010.

Uzan, J., Carbonnel, M., Piconne, O., Asmar, R., Ayoubi, J.M. Pre-eclampsia – pathophysiology, diagnosis, and management. **Vasc Health Risk Manag**, v. 7, p. 467-474, 2011.

Vargas, A., Toufaily, C., LeBellego, F., Rassart, É., Lafond, J., Barbeau, B. Reduced Expression of Both Syncytin 1 and Syncytin 2 Correlates With Severity of Preeclampsia. **Reprod Sci**. v. 18, n. 13, p. 1085-1091, 2011.

Velauthar, L., Plana, M.N., Kalidindi, M., Zamora, J., Thilaganathan, B., Illanes, S.E., Khan, K.S., Aquilina, J., Thangaratnam, S. First-trimester uterine artery Doppler and adverse pregnancy outcome: a meta-analysis involving 55,974 women. **Ultrasound Obstet Gynecol**, v. 43, p. 500-507, 2014.

Wang, J., Zhu, Q.W., Cheng, X.Y., Liu, J.Y., Zhang, L.L., Tao, Y.M., Cui, Y.B., Wei, Y. Assessment efficacy of neutrophil-lymphocyte ratio and monocyte-lymphocyte ratio in preeclampsia. **J Reprod Immunol.**, v.132, p. 29-34, 2019.

West, R.C, Ezashi, T., Schoolcraft, W.B., Yuan, Y. Beyond fusion: A novel role for ERVW-1 in trophoblast proliferation and type I interferon receptor expression. **Placenta**, v. 126, p. 150-159, 2022.

Wright, W. L. Neurologic complications in critically ill pregnant patients. **Handb Clin Neurol**, v. 141, p. 657-674, 2017.

Zhao, L; Bracken, M.B; Dewan, A.T. Genome-wide association study of preeclampsia detects novel maternal single nucleotide polymorphisms and copy-number variants in subsets of the hiperglycemia and adverse Pregnancy Outcome (HAPO) study cohort. **Ann Hum Genet**, v. 77, n. 4, p. 277-287, 2013.

Zugaib, M.; Pulcineli, R. *Obstetrícia*. 3ª ed. São Paulo: **Manole**, 2016.

APÊNDICE A – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS**DATA:** ____/____/____ **Nº. do Protocolo:** _____**GRUPO 1 (PE)** ()**Grupo 2 (Controle)** ()**Diagnóstico de pré-eclâmpsia dado em:** ____/____/____**Médico responsável:** _____**1. Identificação**

Iniciais do nome: _____ Idade: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Estado Civil: _____

Profissão: _____ Raça: _____

Escolaridade: _____

Naturalidade: _____ Telefone: () _____**2. Anamnese**

Presença de doenças intercorrentes? (Distúrbios da coagulação, doenças cardiovasculares, doenças renais, doenças autoimunes, doenças hepáticas, diabetes, câncer, sangramento, pré-eclâmpsia na família, complicações em gravidez anterior).

História familiar: () SIM () NÃOFumante: () SIM () NÃOConsumo de álcool: () SIM () NÃOPrática exercício físico: () SIM () NÃO

Frequência: _____

Modalidade: _____

3. Informações sobre a gestação e antecedentes gineco-obstétricos

Idade gestacional: _____ semanas

Pré-natal: () SIM () NÃO

Gravidez múltipla: () SIM () NÃO

GPA (Gravidez Parto Aborto): _____ / _____ / _____

Mesmo pai: () SIM () NÃO

Partos vaginal (PN) ou cirúrgico (PC)? _____

Idade do primeiro parto: _____

Intervalo interpartal (meses): _____

Parto prematuro: () SIM () NÃO

Filhos vivos: _____

Principais queixas:

() Cefaleia () Epigastralgia () Escotoma

() Outros: _____

4. Uso de medicamentos

5. Informações clínicas e laboratoriais

Altura: _____

Peso (kg): _____

Ganho de peso na gravidez: _____

Exames laboratoriais

Data de realização: ____ / ____ / ____

Hm:	TGO:
Hb:	TGP:
Ht:	Bilirrubina total:
Global:	Bilirrubina direta:
N.b	Bilirrubina indireta:
N.S	Ac. Úrico:
E	Creatinina:
B	Uréia:
L	LDH:
M	Proteinúria:
Plaquetas:	Outros:

Pressão arterial: ____ / ____ mmHg

OBSERVAÇÃO: Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o pós-graduando Dr, Gelton Fonteles que pode ser encontrado na Universidade Federal do Ceará, Campus Sobral, Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde (telefone 85-98840-9192). Endereço do responsável pela pesquisa: Nome: Gelton Fonteles. Instituição: Universidade Federal do Ceará – Campus Sobral. Endereço: Rua Comandante Maurocéllo Rocha Ponte, 100 – Derby. Telefone para contato: (85) 99705-5475. E-mail: geltonfontelesmedicinaufc@gmail.com

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado por Gelton Fonteles como participante de uma pesquisa, onde não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

Este projeto pretende determinar se o polimorfismo do gene ERVW-1 está associado a pré-eclâmpsia em mulheres do nordeste brasileiro. Trata-se de estudo transversal, do tipo caso controle, quantitativo, composto por 64 mulheres gestantes com pré-eclâmpsia (casos) e 76 mulheres gestantes normotensas (controles), admitidas na Maternidade de SantAna da Santa Casa de Misericórdia de Sobral, com o diagnóstico de pré-eclâmpsia estabelecido de acordo com a Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO, 2018).

O estudo será realizado na enfermaria de alto risco da Maternidade de SantAna, na Santa Casa de Misericórdia de Sobral (CE), a beira do leito, mediante esclarecimentos sobre o tema e o objetivo da pesquisa e sem prejuízos à assistência, no período de março/2023 a setembro/2023. As amostras dos raspados bucais obtidas serão armazenadas a -80°C até posterior extração de DNA genômico. A extração do DNA será realizada utilizando-se o PureLink™

Para a coleta dos dados demográficos e clínicos será utilizado um formulário padronizado, permitindo identificar parâmetros como: idade materna, idade gestacional, PAS e PAD, índice de massa corporal (IMC), história anterior de PE e história familiar de PE em ambos os grupos. Os dados de hematócrito (HCT), hemoglobina (Hb), creatinina, uréia, ácido úrico, contagem de glóbulos brancos (WBC), contagem de plaquetas (PLT), TGO, TGP, desidrogenase lática (LDH), proteinúria de 24 horas, teste da fita urinária serão obtidos pelos resultados dos testes laboratoriais de rotina (de pré eclâmpsia) pela realização do exame de imagem que estarão nos prontuários e serão usados para avaliar a gravidade da doença no grupo das pacientes que possuem PE.

Não há benefício direto para você, pois se trata de estudo experimental testando a hipótese de que uma alteração genética nas concentrações desse gene poderá estar relacionada com a pré-eclâmpsia e que possa vir a ser úteis como medida de prevenção primária dessa doença. Somente no final do estudo poderemos concluir a presença de

algum benefício. Este estudo não comprometerá em nada a conduta médica e os procedimentos comuns realizados durante sua gestação.

Não haverá riscos diretos para você, nem para o seu bebê, o risco que pode acontecer refere-se a perda de sigilo dos seus dados envolvidos na pesquisa. Qualquer dado que possa ser publicado posteriormente em revistas científicas, não revelará a sua identidade. Entretanto, órgãos governamentais ligados à saúde podem solicitar informações a respeito da pesquisa e identidade dos participantes nela envolvidos.

Você pode retirar o seu consentimento para participar deste estudo a qualquer momento, inclusive sem justificativas e sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição. Os pesquisadores se comprometem a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Você terá a garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida a respeito dos procedimentos, riscos, benefícios e de outras situações relacionadas com a pesquisa e o tratamento a que será submetida. A sua participação na pesquisa não lhe acarretará despesas e também não lhe oferecerá nenhum tipo de pagamento. A sua contribuição será de grande valia para o desenvolvimento e progresso das pesquisas em pacientes com pré-eclâmpsia.

OBSERVAÇÃO: Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o pós-graduando Gelton Fonteles que pode ser encontrado na Universidade Federal do Ceará, Campus Sobral, Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde (telefone (85) 99705-5475).

Endereço da responsável pela pesquisa:

Nome: Gelton Fonteles

Instituição: Universidade Federal do Ceará – Campus Sobral

Endereço: Av. Governador Cesar Cals N 514, Centro, Marco-CE

Telefones para contato: (85) 99705-5475

O abaixo assinado _____,
_____ anos, RG: _____, declara que é de livre e espontânea vontade que está como participante dessa pesquisa. Eu declaro que li cuidadosamente este

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após sua leitura, tive a oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo, como também sobre a pesquisa e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Declaro que tenho pleno conhecimento dos direitos e das condições que me foram asseguradas e acima relacionadas. Declaro, ainda, que concordo inteiramente com as condições que me foram apresentadas e que, livremente, manifesto a minha vontade de participar do referido projeto, podendo retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço. E declaro, ainda, estar recebendo uma via assinada deste termo.

Sobral, ____ / ____ / ____.

Nome do participante da pesquisa: _____

Data: ____ / ____ / ____ Assinatura: _____

Nome do pesquisador: _____

Data: ____ / ____ / ____ Assinatura: _____

Nome da testemunha: _____

Data: ____ / ____ / ____ Assinatura: _____

Nome do profissional que aplicou o TCLE: _____

Data: ____ / ____ / ____ Assinatura: _____

**ANEXO B – TERMO DE COMPROMISSO DE UTILIZAÇÃO DE DADOS
(TCUD)**

Título do Projeto de Pesquisa: ANÁLISE DA RELAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE ERVW-1 (rs4727276) COM A PATOGÊNESE DA PRÉ-ECLÂMPsia EM MULHERES DO NORDESTE BRASILEIRO.

Pesquisador responsável: Gelton Fonteles.

Instituição cedente dos dados: Santa Casa da Misericórdia de Sobral (SCMS).

1. Identificação dos membros do grupo de pesquisa

Nome completo	RG ou CPF	Assinaturas
Gelton Fonteles (Pesquisador responsável)	2007010185273	
José Juvenal Linhares (Orientador)	256669992	
José Jackson do Nascimento Costa	2000031118110	
Anderson Weiny Barbalho Silva (Coorientador)	2003031040948	
Lailton Oliveira da Silva	20079036915	
Davi Rocha do Nascimento	20083332213	

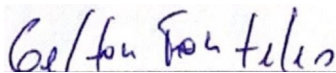
2. Declaração do pesquisador responsável

Dados serão coletados somente após aprovação do projeto de pesquisa pela Comissão de Pesquisa do Departamento de Ensino, Pesquisa e Extensão (DEPE) da Santa Casa de Misericórdia de Sobral (SCMS) e Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário INTA (UNINTA): prontuários de pacientes admitidas na Maternidade de Sant'Ana da Santa Casa de Misericórdia de Sobral. Os dados obtidos na pesquisa somente serão utilizados para o projeto vinculado.

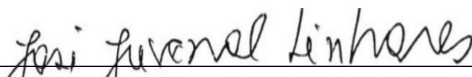
Eu, GELTON FONTELES, abaixo assinado, pesquisador responsável, e os demais pesquisadores envolvidos no projeto se comprometem a manter a confidencialidade sobre os dados coletados, bem como a privacidade de seus conteúdos, como preconizam a Resolução 466/12, e suas complementares, do Conselho Nacional de Saúde (CNS). Declaro entender que a integridade das informações e a garantia da confidencialidade dos dados e a privacidade dos indivíduos que terão suas informações acessadas estão sob nossa responsabilidade. Também declaro que não repassaremos os dados coletados ou o banco de dados em sua íntegra, ou parte dele, a pessoas não envolvidas na equipe da pesquisa. Os dados obtidos na pesquisa somente serão utilizados para este projeto.

Devido à impossibilidade de obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de todos os sujeitos, assinaremos esse Termo de Consentimento de Uso de Banco de Dados para salvaguardar os direitos dos participantes.

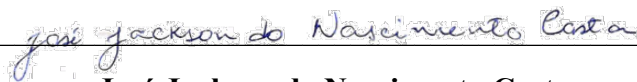
Sobral-CE, 03 de março de 2023.



Gelton Fonteles
Pesquisador responsável



José Juvenal Linhares
Orientador



José Jackson do Nascimento Costa
Coorientador

ANEXO C – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

Continuação do Parecer: 6.055.778

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nenhuma pendência.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_2006026.pdf	17/04/2023 18:41:03		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_.docx	17/04/2023 18:40:27	JOSE JACKSON DO NASCIMENTO COSTA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_MESTRADO_gelton.docx	17/04/2023 18:40:15	JOSE JACKSON DO NASCIMENTO COSTA	Aceito
Outros	fiel_depositario_ervw1.pdf	17/04/2023 18:27:41	JOSE JACKSON DO NASCIMENTO COSTA	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	BIOREPOSITORIO_ERVW1.pdf	17/04/2023 18:23:46	JOSE JACKSON DO NASCIMENTO COSTA	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_.docx	29/03/2023 10:21:38	JOSE JACKSON DO NASCIMENTO COSTA	Aceito
Outros	cartadeanuenciaUFC.pdf	29/03/2023 10:01:25	JOSE JACKSON DO NASCIMENTO COSTA	Aceito
Outros	FICHADECOLETADEADOS.docx	29/03/2023 09:53:51	JOSE JACKSON DO NASCIMENTO COSTA	Aceito
Outros	TCUD.docx	29/03/2023 09:53:07	JOSE JACKSON DO NASCIMENTO COSTA	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO_.docx	29/03/2023 09:48:01	JOSE JACKSON DO NASCIMENTO COSTA	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto.pdf	29/03/2023 09:28:09	JOSE JACKSON DO NASCIMENTO COSTA	Aceito
Outros	ANUENCIA_SCMS.pdf	29/03/2023 09:20:28	JOSE JACKSON DO NASCIMENTO COSTA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SOBRAL, 12 de Maio de 2023

Assinado por:
ANTONIO EDIE BRITO MOURAO
(Coordenador(a))