

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 21/08/2017.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA E BIOTECNOLOGIA

Dissertação de Mestrado

Mieloperoxidase em síndromes hipertensivas da gestação

Aluna: Lilliam Rocha Penha

Orientador (a): Dra. Valéria Cristina Sandrim

Fevereiro / 2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Penha, Lilliam Rocha.

Mieloperoxidase em síndromes hipertensivas da gestação
/ Lilliam Rocha Penha. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de
Botucatu

Orientador: Valéria Cristina Sandrim

Capes: 21000000

1. Hipertensão na gravidez. 2. Pré-eclâmpsia. 3. Óxido
nítrico. 4. Peroxidase. 5. Agentes hipotensores.

Palavras-chave: Drogas anti-hipertensivas; Hipertensão
gestacional; Mieloperoxidase; Óxido nítrico;
Pré-eclâmpsia.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA E BIOTECNOLOGIA

Lilliam Rocha Penha

Mieloperoxidase em síndromes hipertensivas da gestação

Dissertação apresentada ao Instituto de Bociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do título de Mestre em Farmacologia e Biotecnologia.

Orientador(a): Dra. Valéria Cristina Sandrim

Fevereiro / 2017

AGRADECIMENTOS

A minha estimada orientadora, Dra. Valéria Cristina Sandrim, por me guiar nesta jornada, por sempre acreditar em mim e por ter me presenteado com este maravilhoso projeto. Obrigada pela dedicação, paciência e pelos ensinamentos que me fizeram uma profissional e uma pessoa melhor. Muito mais que orientadora, você foi conselheira, amiga e inspiração.

Aos meus colegas de laboratório e departamento pela amizade, pelas discussões sempre produtivas e pelas muitas risadas que sempre tornavam os dias mais leves.

A todos os professores e funcionários do departamento de Farmacologia, pela paciência e dedicação ao dividirem seus conhecimentos e experiências comigo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia por abrir as portas e me proporcionar meios para aumentar meus conhecimentos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Por fim, meu infinito agradecimento a minha família, que sempre me incentivou a seguir meus sonhos e dar o melhor de mim. Obrigada pelo apoio e amor incondicional.

SUMÁRIO

1. RESUMO	5
2. ABSTRACT	6
3. INTRODUÇÃO	7
3.1 Síndromes hipertensivas da gestação	7
3.2 Mieloperoxidase	9
3.2.1 Mieloperoxidase em quadros patológicos	12
4. CAPÍTULO 1: MANUSCRITO	14
ABSTRACT	16
INTRODUCTION	17
MATERIAL AND METHODS	18
Study design	18
Patients	19
Cell culture and plasma incubation	19
Human cardiovascular disease panel	20
Myeloperoxidase concentration and activity	20
Nitrite quantification	21
Statistical analysis	22
RESULTS	22
<i>In vitro</i> quantification of proteins related to cardiovascular risk	22
Concentration and activity of myeloperoxidase in plasma samples	23
Influence of anticoagulant present in blood collection tubes on myeloperoxidase analysis	24
<i>In vitro</i> and plasma relation between myeloperoxidase and nitric oxide bioavailability	25
DISCUSSION	25
PERSPECTIVES	29
SOURCES OF FUNDING	29
CONFLICT OF INTEREST	30
REFERENCES	30
NOVELTY AND SIGNIFICANCE	36
<i>What is new?</i>	36
<i>What is relevant?</i>	36
<i>Summary</i>	36
FIGURES AND LEGENDS	37

Figure 1. Boxplot of log concentration of biomarkers from cardiovascular disease panel in culture supernatant.....	37
Figure 2. Plasma MPO concentration and activity.....	38
Figure 3. MPO activity and nitrite concentration in culture supernatant.....	39
TABLES	40
Table 1. Clinical and biochemical characteristics of patients for <i>in vitro</i> analysis	40
Table 2. Clinical and biochemical characteristics for circulating study.....	41
ONLINE SUPPLEMENT	43
Figure S1. Schematic diagram of the study workflow.....	44
Figure S2. Inhibition of plasma enzymatic activity by 4-ABAH	45
Figure S3. Comparison of MPO concentration and activity between EDTA-plasma and heparin-plasma..	45
Figure S4. Plasmatic MPO activity inhibition by heparin..	46
Table S1. Quality control for human cardiovascular disease panel analytes	47
Table S2. Correlations between concentration and activity of myeloperoxidase and clinical parameters from patients without antihypertensive medication	48
Table S3. Correlations between concentration and activity of myeloperoxidase and plasma nitrite.....	50
Table S4. Overview of studies that analyzed the relation of myeloperoxidase and preeclampsia.....	51
5 CONCLUSÃO GERAL	52
6 REFERÊNCIAS GERAIS	53

1. RESUMO

A enzima mieloperoxidase (MPO) é caracterizada por produzir substâncias altamente reativas e é reconhecida por desencadear estresse oxidativo e disfunção endotelial mediada, em parte, pela interferência com o vasodilatador óxido nítrico. Neste estudo, nós investigamos a relação entre o óxido nítrico e a MPO *in vitro* incubando o plasma de gestantes saudáveis, hipertensas e com pré-eclâmpsia com células endoteliais (HUVEC). Foram observados maiores níveis de MPO no sobrenadante de células incubadas com o plasma de pacientes com pré-eclâmpsia comparado ao de células incubadas com plasma de gestantes saudáveis, e que a inibição da atividade enzimática aumentou a disponibilidade de óxido nítrico. Posteriormente, nós avaliamos a concentração e atividade da MPO no plasma de 219 gestantes saudáveis, 130 hipertensas gestacionais (com e sem terapia anti-hipertensiva) e 143 gestantes com pré-eclâmpsia (com e sem terapia anti-hipertensiva). Nós observamos que pacientes com síndromes hipertensivas e sob tratamento anti-hipertensivo apresentaram menores níveis e atividade desta enzima e, curiosamente, pacientes que tiveram o plasma coletado antes do tratamento anti-hipertensivo apresentaram níveis elevados de MPO. Nossos resultados indicam um elevado risco cardiovascular em gestantes com síndromes hipertensivas e que a MPO ativa pode ter um papel na disfunção endotelial nestas síndromes pelo comprometimento da disponibilidade do óxido nítrico. Além disso, o uso de drogas anti-hipertensivas parece reduzir os níveis e a atividade enzimática, sugerindo um novo mecanismo protetor para estas drogas.

Palavras-chave: Pré-eclâmpsia; Hipertensão gestacional; Mieloperoxidase; Óxido nítrico; Drogas anti-hipertensivas.

2. ABSTRACT

Myeloperoxidase is characterized by production of highly reactive substances and recognized to trigger oxidative stress and endothelial dysfunction mediated in part by nitric oxide impairment. In this study, we investigated the relation between nitric oxide and MPO *in vitro* incubating plasma from healthy, gestational hypertensive and preeclampsia with endothelial cells. We found higher levels of myeloperoxidase in cultures incubated with plasma from preeclampsia group compared to healthy pregnant, and the inhibition of MPO activity improved nitric oxide bioavailability. Further, we measured plasma concentration and activity of myeloperoxidase in 219 healthy pregnant women, 130 gestational hypertension (on antihypertensive therapy or not) and 143 preeclampsia patients (on antihypertensive therapy or not). We found that patients with hypertensive disorders and on antihypertensive treatment showed lower levels and activity of this enzyme and interestingly patients who the plasma was collected before antihypertensive treatment showed elevated levels of MPO. Our results indicate a higher cardiovascular risk in pregnant with hypertensive disorders, and that active myeloperoxidase may play a role in the endothelial dysfunction in this conditions by impairment of nitric oxide availability. Besides, the use of antihypertensive drugs seems to decrease enzyme levels and activity suggesting a new protective mechanism for these drugs.

Keywords: Preeclampsia; Gestational hypertension; Myeloperoxidase; Nitric oxide; Antihypertensive drugs.

3. INTRODUÇÃO

3.1 Síndromes hipertensivas da gestação

A gestação é um período relacionado à grandes mudanças do organismo materno para que este possa ser capaz de suprir as demandas do feto em desenvolvimento. Algumas destas mudanças estão relacionadas ao sistema circulatório como o aumento do volume sanguíneo, maior produção de substâncias vasodilatadoras, como o óxido nítrico (NO), e de eritrócitos e leucócitos (principalmente neutrófilos) (ZUGAIB, 2012).

Dentre as complicações mais comuns da gestação e uma das principais causas de morbimortalidade materno-fetal estão as síndromes hipertensivas, afetando aproximadamente 10% das gestações no mundo (ACOG, 2013). Estas alterações hipertensivas podem ser classificadas em:

- Hipertensão crônica/pré-existente – hipertensão (sistólica ≥ 140 ou diastólica ≥ 90 mmHg) diagnosticada antes da gestação ou anterior a 20ª semana gestacional, ou diagnosticada durante a gestação e que não regride após o parto;
- Hipertensão crônica/pré-existente sobreposta por pré-eclâmpsia – mulheres com hipertensão crônica que desenvolvem proteinúria ou outras alterações sistêmicas características da pré-eclâmpsia;
- Hipertensão gestacional – hipertensão diagnosticada após a 20ª semana gestacional sem presença de proteinúria ou complicações sistêmicas características da pré-eclâmpsia, regressão do quadro hipertensivo em até 12 semanas após o parto;
- Pré-eclâmpsia – hipertensão (sistólica ≥ 140 ou diastólica ≥ 90 mmHg) diagnosticada após 20ª semana de gestação com presença de proteinúria ($\geq 0,3$ g/24h) ou complicações hematológicas, hepáticas, neurológicas (ACOG, 2013; NHBPEP, 2000).

A pré-eclâmpsia é uma das síndromes hipertensivas gestacionais que apresenta contribuição mais significativa para mortalidade materna no mundo (STEEGERS et al., 2010) e histórico familiar, pré-eclâmpsia em gestação anterior, assim como a presença de condições patológicas (hipertensão, doenças autoimunes, diabetes, obesidade, etc.) estão entre os principais fatores de risco para o desenvolvimento da doença (HUTCHEON; LISONKOVA; JOSEPH, 2011). Apesar da grande importância da pré-eclâmpsia sobre o bem-estar materno/fetal, sua fisiopatologia ainda não está completamente esclarecida e o único tratamento definitivo é o parto. Entretanto, o tratamento com drogas anti-hipertensivas pode ser aplicado de forma a prolongar a gestação e reduzir os riscos para mãe e feto. Os

fármacos anti-hipertensivos mais comumente utilizados no Brasil são a metildopa, nifedipina e hidralazina, respectivamente (NETO; SOUZA; AMORIM, 2010).

Apesar das diferentes teorias sobre a fisiopatologia desta síndrome, existe um consenso de que a placentação anormal seja um ponto essencial no desenvolvimento desta condição, uma vez que os sintomas desaparecem após o parto (NALJAYAN; KARUMANCHI, 2013). Em condições normais, por volta do início do segundo trimestre de gestação, as células do citotrofoblasto migram em direção as arteríolas espiraladas no miométrio onde adquirem fenótipo endotelial, levando a um remodelamento destes vasos e degradação do músculo liso, resultando em uma maior vasodilatação destas arteríolas (Figura 1). Na pré-eclâmpsia este processo está prejudicado, fazendo com que o remodelamento das artérias uterinas ocorra de forma incompleta resultando em um quadro de isquemia placentária (NALJAYAN; KARUMANCHI, 2013; ROBERTS; BELL, 2013). O quadro isquêmico da placenta resultaria então na liberação de diversos fatores bioativos, como fatores anti-angiogênicos (ex. soluble fms-like tyrosine kinase-1 [sFlt-1], soluble endoglin [sEnd]), pró-inflamatórios (ex. fator de necrose tumoral- α [TNF α]), espécies reativas (ex. superóxido e peróxido de hidrogênio), na circulação materna levando à disfunção endotelial e favorecendo assim a vasoconstrição (POSSOMATO-VIEIRA; KHALIL, 2016; SHAH; KHALIL, 2015).

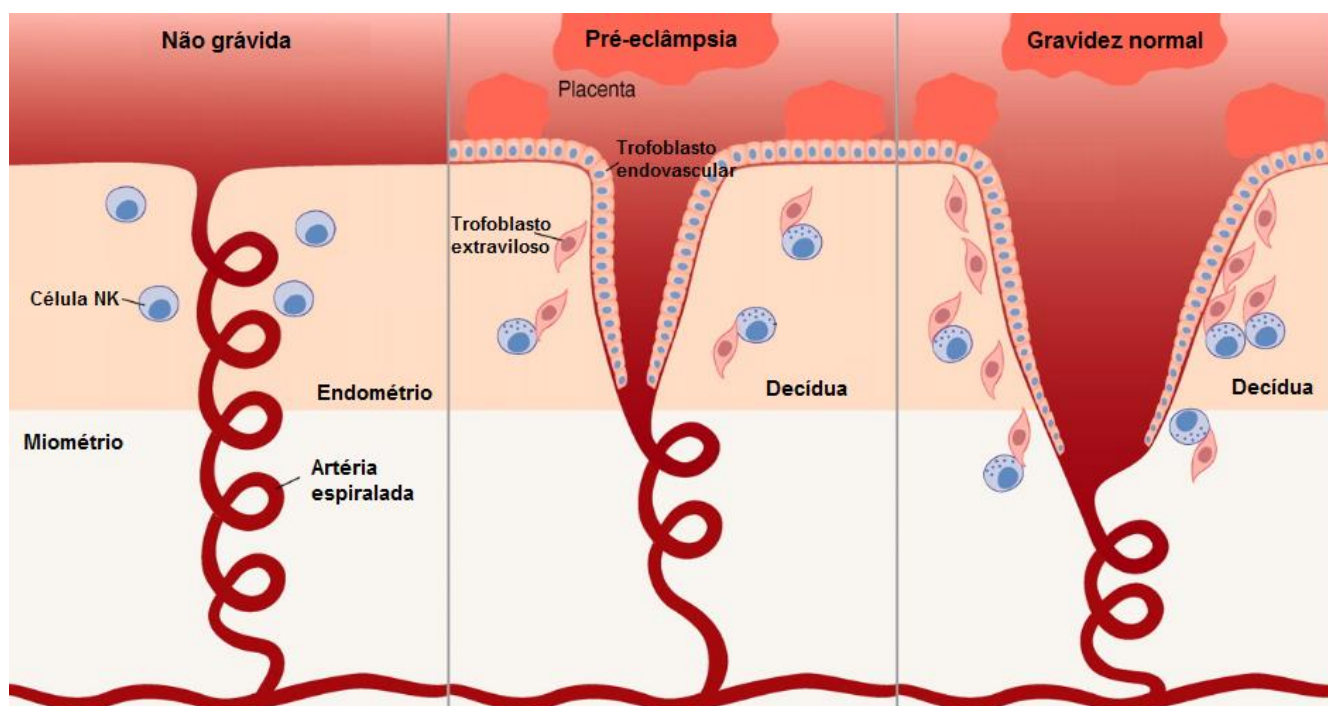


Figura 1. Diferenças no diâmetro das arteríolas uterinas em mulheres não grávidas (painel à esquerda), grávidas saudáveis com remodelamento efetivo atingindo o miométrio (painel à direita) e gestantes com pré-eclâmpsia com remodelamento ineficiente (painel central). O remodelamento ocorre com a invasão pelos trofoblastos extravilosos que adquirem então fenótipo endotelial (trofoblastos endovasculares)(Reproduzido e adaptado de PARHAM, 2004).

A disfunção endotelial é caracterizada por alterações na função vascular desencadeada pelo desequilíbrio de fatores vasoativos, principalmente do vasodilatador óxido nítrico (NO, do inglês *nitric oxide*), e é tida como uma característica central na pré-eclâmpsia, além de ser um indicador para doenças do sistema cardiovascular(GOULOPOULOU; DAVIDGE, 2015).

3.2 Mieloperoxidase

Membro da família das heme-peroxidases e parte da resposta imune inata, a mieloperoxidase (MPO) é uma enzima altamente catiônica envolvida na destruição de patógenos, condições inflamatórias e também no estresse oxidativo(NAUSEEF, 2014).

Sua síntese se inicia com a pré-pro-MPO (~80kD) que, após clivagem de um peptídeo e N-glicosilação, é transformada em apo-pro-MPO, esta se liga ao grupamento heme para formar a pro-MPO (~90kD), que já apresenta atividade enzimática. Após diversas clivagens (de um pro-peptídeo amino-terminal, um peptídeo entre as cadeias leve e pesada e um resíduo de serina no terminal carboxila) é então formada a MPO madura (Figura 2). Em sua forma madura é composta por dois monômeros ligados por uma ponte de dissulfeto, sendo que cada monômero é formado por uma cadeia leve (~14kD) e uma pesada (~58kD) e apresenta um grupamento heme (ANDERSSON et al., 1998; FURTMÜLLER et al., 2006).

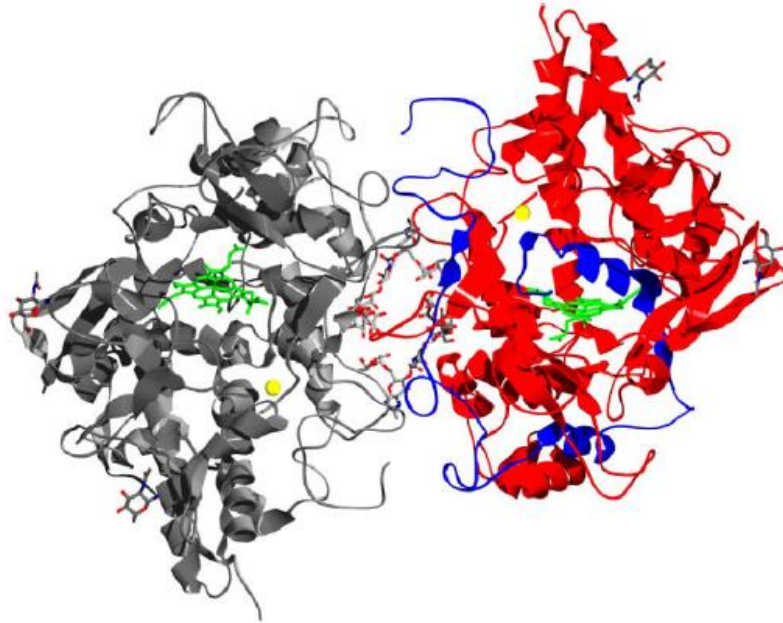


Figura 2. Estrutura geral da mieloperoxidase madura (dímero). Cada subunidade é composta por uma cadeia leve (azul), uma pesada (vermelha) e um grupamento heme (verde) (Reproduzido de FURTMÜLLER et al., 2006).

A MPO é sintetizada principalmente no estágio promielocítico do desenvolvimento neutrofílico e é armazenada nos grânulos azurófilos ou primários destas células, correspondendo a aproximadamente 5% do peso seco destas (SCHULT, KAMINKER, 1962). Também presente em menor quantidade em monócitos, é sintetizada na fase de promonócitos e geralmente desaparece durante a transformação em macrófagos (KLEBANOFF, 2005), podendo ser mantida ou ter sua síntese re-induzida em determinadas circunstâncias, como tem sido observado na aterosclerose (SUGIYAMA et al., 2001) e algumas doenças neurodegenerativas (LEFKOWITZ; LEFKOWITZ, 2008).

Durante a resposta inflamatória, a liberação de mediadores pró-inflamatórios, como o fator de necrose tumoral α (TNF α), levam à ativação dos neutrófilos e ao desencadeamento do “*burst* respiratório”, resultando na produção de grandes quantidades de ânion superóxido e peróxido de hidrogênio (EL-BENNA et al., 2016). Com a ativação celular, os grânulos se fundem ao fagossomo liberando a MPO (AMULIC et al., 2012) que, na presença de peróxido de hidrogênio e halogênios/pseudo-halogênios (principalmente Cl⁻, Br⁻ e SCN⁻), catalisa a formação de haloácidos (ciclo de halogenação [Figura 3]) com grande potencial oxidativo e bactericida (KLEBANOFF, 2005; NUSSBAUM et al., 2013; NAUSEEF, 2014). Além do ciclo de halogenação, a MPO também catalisa diversas reações pelo ciclo de peroxidação (Figura

3), onde pode levar a oxidação de uma grande variedade de substratos orgânicos e inorgânicos (EISERICH; BALDUS; BRENNAN, 2002; KATO, 2016; MEOTTI et al., 2011).

Além da degranulação nos fagossomos, a MPO também pode ser liberada no meio extracelular podendo afetar diversas funções celulares como sinalização e crescimento, expressão proteica e apoptose, isso devido aos diversos alvos passíveis de oxidação/cloração (proteínas de sinalização intracelular, DNA, lipoproteínas, etc) (KLEBANOFF, 2005; NUSSBAUM et al., 2013).

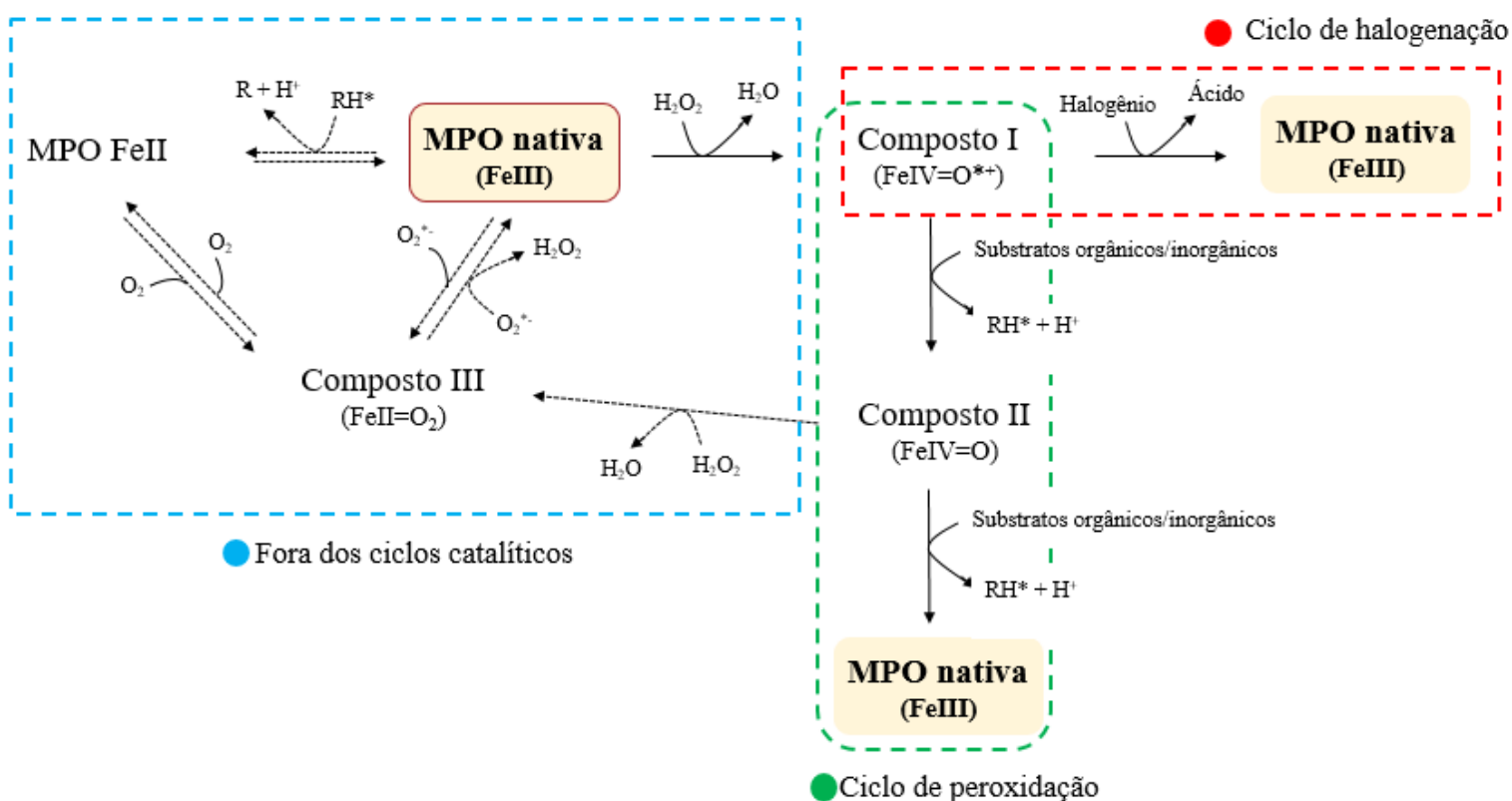


Figura 3. Visão geral da atividade catalítica da MPO. A MPO nativa reduz o H_2O_2 formando composto I, que pode retornar a forma nativa através da transferência de 2 elétrons pelo ciclo de halogenação, onde gera ácidos altamente reativos, ou através de duas transferências de 1 elétron, formando o intermediário composto II, pelo ciclo de peroxidação. Fora do ciclo catalítico ainda há dois outros estados da molécula, a MPO-Fe II, formada pela reação da forma nativa com radicais formados no ciclo de peroxidação, e o composto III, formado pela reação: da forma nativa com ânion superóxido, da MPO-Fe II com oxigênio ou do composto II com H_2O_2 (Reproduzido e adaptado de NUSSBAUM et al., 2013).

3.2.1 Mieloperoxidase em quadros patológicos

Devido à influência da MPO e seus produtos sobre diversas moléculas e suas repercussões sobre a função celular, esta enzima tem sido relacionada a diversas condições patológicas como câncer, doenças renais, neurodegenerativas e principalmente doenças cardiovasculares(VAN DER VEEN; DE WINTHER; HEERINGA, 2009). Nas doenças cardiovasculares pode atuar por diversos mecanismos, entretanto, sua influência no desenvolvimento da disfunção endotelial parece ser uma das principais formas de contribuição para estas condições(ANATOLIOTAKIS et al., 2013).

Diversos estudos demonstraram que a mieloperoxidase tem a habilidade de reduzir, direta e indiretamente, a biodisponibilidade de NO, seja utilizando-o diretamente como substrato ou pela reação com as espécies reativas geradas pela enzima que podem oxidar diretamente o NO(ABU-SOUD; HAZEN, 2000; EISERICH et al., 2002), reagir com a L-arginina (precursor do NO)(YANG et al., 2006; ZHANG et al., 2001) ou induzir o desacoplamento da enzima responsável pela síntese do vasodilatador, a óxido nítrico sintase endotelial (eNOS)(XU et al., 2006; ZOU; SHI; COHEN, 2002). Além da redução na biodisponibilidade de NO, foi observado que a MPO também pode ocasionar uma diminuição de bradicinina (vasodilatador) durante o processo de internalização pela célula endotelial(ASTERN et al., 2007).

Estudos sobre os níveis de MPO em pacientes com síndromes hipertensivas da gestação são restritos à pré-eclâmpsia e são controversos(BOWEN et al., 2001; GANDLEY et al., 2008; HUNG et al., 2012; KARACAY et al., 2010; KURDOGLU et al., 2012; MELLEBAKKEN et al., 2001; NOYAN et al., 2006). Porém, alguns autores têm apontado a presença de maiores níveis, plasmáticos e placentários, da mieloperoxidase em paciente com pré-eclâmpsia(GANDLEY et al., 2008; KURDOGLU et al., 2012; MELLEBAKKEN et al., 2001; NOYAN et al., 2006). Entretanto, nenhum destes estudos avaliou ambos parâmetros da enzima, concentração e atividade, em um grande número de indivíduos nem em pacientes com hipertensão gestacional.

Desta forma, considerando as características da MPO assim como as principais características das síndromes hipertensivas da gestação, nós hipotetizamos que a MPO estaria elevada em gestantes com síndromes hipertensivas e que a MPO apresentaria um papel importante na disfunção endotelial através do consumo de NO. Desta forma, este estudo tem como objetivo investigar a concentração e atividade plasmática da MPO em gestantes saudáveis, hipertensas e pré-eclâmpicas, assim como comparar estes parâmetros entre amostras coletadas em tubos com EDTA e heparina como anticoagulante

para verificar influências pré-analíticas, e verificar se a inibição da atividade enzimática da MPO *in vitro* resultaria em uma modulação da disponibilidade de NO

5 CONCLUSÃO GERAL

Em acordo com trabalhos anteriores, nós encontramos maiores níveis de MPO em pacientes com pré-eclâmpsia e, pela primeira vez, mostramos que pacientes com hipertensão gestacional apresentam maior atividade da MPO. Também demonstramos que a inibição da atividade enzimática resultou em um aumento na disponibilidade de nitrito, marcador do vasodilatador óxido nítrico *in vitro*, abrindo possibilidades para a utilização de moduladores da MPO na tentativa de melhorar a função endotelial e assim reduzir o risco de complicações. De forma geral, os resultados obtidos neste trabalho indicam um maior risco para o desenvolvimento futuro de doenças cardiovasculares nos grupos de gestantes com síndromes hipertensivas e apontam um possível envolvimento da MPO na disfunção endotelial, característica nestas síndromes. Além disso, os resultados apontam uma possível influência do tratamento anti-hipertensivo sobre a MPO, o que pode estar relacionado a modulação da resposta imune pela via simpática, e sugerem que o tratamento anti-hipertensivo nas síndromes hipertensivas gestacionais pode apresentar um papel protetor contra os danos causados por esta enzima, uma vez que sua presença estava associada a uma redução dos níveis da MPO. Por fim, a redução dos parâmetros da MPO associada ao anticoagulante heparina reforça a necessidade de padronização de técnicas para análise desta enzima, de forma a assegurar a obtenção de resultados confiáveis.

6 REFERÊNCIAS GERAIS

- ABU-SOUD, H. M.; HAZEN, S. L. Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 48, p. 37524–37532, 2000.
- ACOG. Hypertension in Pregnancy. **Obstet Gynecol**, v. 122, n. January, p. 1122–1131, 2013.
- AMULIC, B. et al. Neutrophil function: from mechanisms to disease. **Annu.Rev.Immunol.**, v. 30, n. 1545–3278 (Electronic), p. 459–489, 2012.
- ANATOLIOTAKIS, N. et al. Myeloperoxidase : Expressing Inflammation and Oxidative Stress in Cardiovascular Disease. p. 115–138, 2013.
- ANDERSSON, E. et al. The role of the propeptide for processing and sorting of human myeloperoxidase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, n. 8, p. 4747–4753, 1998.
- ASTERN, J. M. et al. Myeloperoxidase interacts with endothelial cell-surface cytokeatin 1 and modulates bradykinin production by the plasma Kallikrein-Kinin system. **The American journal of pathology**, v. 171, n. 1, p. 349–60, 2007.
- BOWEN, R. S. et al. Systemic inflammatory indices in pre-eclampsia and eclampsia. n. 6, 2001.
- EISERICH, J. P. et al. Myeloperoxidase, a leukocyte-derived vascular NO oxidase. **Science (New York, N.Y.)**, v. 296, n. 5577, p. 2391–2394, 2002.
- EISERICH, J. P.; BALDUS, S.; BRENNAN, M. Myeloperoxidase , a Leukocyte-Derived Vascular NO Oxidase. v. 296, n. June, p. 2391–2395, 2002.
- EL-BENNA, J. et al. Priming of the neutrophil respiratory burst: role in host defense and inflammation. **Immunological Reviews**, v. 273, n. 1, p. 180–193, 2016.
- FURTMÜLLER, P. G. et al. Active site structure and catalytic mechanisms of human peroxidases. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 445, n. 2, p. 199–213, 2006.
- GANDLEY, R. E. et al. Increased Myeloperoxidase in the Placenta and Circulation of Women With Preeclampsia. 2008.
- GOULOPOULOU, S.; DAVIDGE, S. T. Molecular mechanisms of maternal vascular dysfunction in preeclampsia. **Trends in molecular medicine**, v. 21, n. 2, p. 88–97, 2015.
- HUNG, T. et al. Myeloperoxidase in the plasma and placenta of normal pregnant women and women with pregnancies complicated by preeclampsia and intrauterine

growth restriction. *v. 33*, p. 294–303, 2012.

HUTCHEON, J. A.; LISONKOVA, S.; JOSEPH, K. S. Epidemiology of pre-eclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy. **Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology**, *v. 25*, n. 4, p. 391–403, 2011.

KARACAY, O. et al. A quantitative evaluation of total antioxidant status and oxidative stress markers in preeclampsia and gestational diabetic patients in 24-36 weeks of gestation. **Diabetes Res Clin Pract**, *v. 89*, n. 3, p. 231–238, 2010.

KATO, Y. Neutrophil myeloperoxidase and its substrates: formation of specific markers and reactive compounds during inflammation. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, *v. 58*, n. 2, p. 99–104, 2016.

KLEBANOFF, S. J. Myeloperoxidase : friend and foe. **Journal of leukocyte biology**, *v. 77*, p. 598–625, 2005.

KURDOGLU, Z. et al. Evaluation of the Relationship Between Adenosine Evaluation of the Relationship Between Adenosine Deaminase , Myeloperoxidase , Cholinesterase , Preeclampsia Severity , and Neonatal. **Clinical and Experimental Hypertension**, *v. 34*, n. 7, p. 493–97, 2012.

LEFKOWITZ, D. L.; LEFKOWITZ, S. S. Microglia and myeloperoxidase: A deadly partnership in neurodegenerative disease. **Free Radical Biology and Medicine**, *v. 45*, n. 5, p. 726–731, 2008.

MELLEMBAKKEN, J. R. et al. Increased systemic activation of neutrophils but not complement in preeclampsia. **Obstetrics and Gynecology**, *v. 97*, n. 3, p. 371–374, 2001.

MEOTTI, F. C. et al. Urate as a physiological substrate for myeloperoxidase: Implications for hyperuricemia and inflammation. **Journal of Biological Chemistry**, *v. 286*, n. 15, p. 12901–12911, 2011.

NALJAYAN, M. V.; KARUMANCHI, S. A. New Developments in the Pathogenesis of Preeclampsia. **Advances in Chronic Kidney Disease**, *v. 20*, n. 3, p. 265–270, 2013.

NAUSEEF, W. M. Microreview Myeloperoxidase in human neutrophil host defence. **Cellular Microbiology**, *v. 16*, n. June, p. 1146–1155, 2014.

NETO, C. N.; SOUZA, A. S. R. DE; AMORIM, M. M. R. Tratamento da pré-eclâmpsia baseado em evidências. **Rev Bras Ginecol Obstet. Rio de Janeiro**, *v. 32*, p. 459–468, 2010.

NHBPEP. **Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy** *American Journal of*

Obstetrics and Gynecology, 2000.

NOYAN, T. et al. Serum advanced oxidation protein products , myeloperoxidase and ascorbic acid in pre-eclampsia and eclampsia. n. July, p. 486–491, 2006.

NUSSBAUM, C. et al. Myeloperoxidase: a leukocyte-derived protagonist of inflammation and cardiovascular disease. **Antioxidants & redox signaling**, v. 18, n. 6, p. 692–713, 2013.

PARHAM, P. NK cells and trophoblasts: partners in pregnancy. **The Journal of experimental medicine**, v. 200, n. 8, p. 951–5, 2004.

POSSOMATO-VIEIRA, J. S.; KHALIL, R. A. **Mechanisms of Endothelial Dysfunction in Hypertensive Pregnancy and Preeclampsia**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2016. v. 77

ROBERTS, J. M.; BELL, M. J. If we know so much about preeclampsia, why haven't we cured the disease? **Journal of Reproductive Immunology**, v. 99, n. 1–2, p. 1–9, 2013.

SCHULTZ, JULIUS; KAMINKER, K. Myeloperoxidase of the leucocyte of normal human blood. I. Content and localization. **Arch Biochem Biophys**, v. 96, n. 165, p. 465–467, 1962.

SHAH, D. A.; KHALIL, R. A. Bioactive factors in uteroplacental and systemic circulation link placental ischemia to generalized vascular dysfunction in hypertensive pregnancy and preeclampsia. **Biochemical Pharmacology**, v. 95, n. 4, p. 211–226, 2015.

STEEGERS, E. A. et al. Pre-eclampsia. **The Lancet**, v. 376, n. 9741, p. 631–644, 2010.

SUGIYAMA, S. et al. Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes. **The American journal of pathology**, v. 158, n. 3, p. 879–91, 2001.

VAN DER VEEN, B. S.; DE WINTHER, M. P.; HEERINGA, P. Myeloperoxidase: molecular mechanisms of action and their relevance to human health and disease. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 11, n. 11, p. 2899–2937, 2009.

XU, J. et al. Uncoupling of endothelial nitric oxidase synthase by hypochlorous acid: Role of NAD(P)H oxidase-derived superoxide and peroxynitrite. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 26, n. 12, p. 2688–2695, 2006.

YANG, J. et al. L-arginine chlorination results in the formation of a nonselective nitric-oxide synthase inhibitor. **The Journal of pharmacology and experimental**

therapeutics, v. 318, n. 3, p. 1044–9, 2006.

ZHANG, C. et al. Chlorination Products Inhibit Endothelial Nitric Oxide Production * L-Arginine. v. 276, n. 29, p. 27159–27165, 2001.

ZOU, M. H.; SHI, C.; COHEN, R. A. Oxidation of the zinc-thiolate complex and uncoupling of endothelial nitric oxide synthase by peroxynitrite. **Journal of Clinical Investigation**, v. 109, n. 6, p. 817–826, 2002.

ZUGAIB, M. **Zugaib Obstetrícia**. 2. ed. Barueri, São Paulo: Manole, 2012.