



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

JÚLIO DE MESQUITA FILHO

FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GINECOLOGIA, OBSTETRÍCIA E MASTOLOGIA

Ana Bárbara Bordignon Rodrigues Menegazzo

Determinação do valor da haptoglobina sérica para diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia, Área de Concentração em Ginecologia, da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP para obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Joelcio Francisco Abbade

Botucatu – SP

2014

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

Menegazzo, Ana Bárbara Bordignon Rodrigues.

Determinação do valor da haptoglobina sérica para diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP / Ana Bárbara Bordignon Rodrigues Menegazzo. - Botucatu, 2014

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Joélcio Francisco Abbade

Capes: 40101150

1. Mulheres grávidas. 2. Síndrome HELLP. 3. Pré-eclâmpsia. 4. Haptoglobinas. 5. Hemólise e hemolisinas. 6. Estudos transversais.

Palavras-chave: Haptoglobina ; Hemólise; Pré-eclâmpsia; Síndrome HELLP.

Agradecimentos

A Faculdade de Ciências Médicas de Santos – UNILUS por viabilizar minha formação profissional.

Ao Prof. Dr. Joélcio Francisco Abbade pela excelente orientação, dedicação e por ser incansável nos ensinamentos a mim dedicados.

Ao Prof. Dr. José Carlos Peraçoli pelo carinho, amizade e apoio dado para que este trabalho fosse realizado com sucesso.

Ao Laboratório de Imunologia do Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP, na pessoa da Profa. Dra. Maria Terezinha Serrão Peraçoli, pelo empenho e incentivo para a realização deste trabalho.

Ao meu filho Rafael Bordignon Rodrigues Menegazzo que me estimula a ser uma pessoa melhor a cada dia.

Ao meu marido Marcos Ricardo Menegazzo pelo amor, incentivo, apoio e companheirismo em todos os momentos de alegria e dificuldade e pela paciência e compreensão durante o desenvolvimento deste mestrado.

Aos meus pais Marilda Marques Bordignon Rodrigues e José Ricardo Paciência Rodrigues que nunca mediram esforços para minha formação e educação. Pelo amor incondicional e confiança em mim depositados. Por estarem sempre presentes em todos os momentos importantes de minha vida.

Ao meu irmão Milton Rodrigues Neto pelo companheirismo, carinho e amor que nos une cada dia mais, formando laços de amizade e respeito.

A minha família, meu avô Arnaldo Bordignon, tios e tias, primos e primas, cunhado e cunhadas pelo incentivo constante e confiança em mim depositado. Meus sobrinhos e sobrinhas por encherem minha vida de alegria.

Ao Programa de Pós-graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, professores e coordenadores, pelo empenho e incentivo para este aprimoramento profissional, possibilitando a realização desta pós-graduação.

As bibliotecárias, Viviani da biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas de Santos – UNILUS, Enilze e Rose da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, por todo auxílio e carinho durante o desenvolvimento deste mestrado.

A Thais Tiemi Niga pela participação efetiva na dosagem dos dados relativos à tese.

Lista de Tabela

TABELA 1 – Características da população de gestantes estudada 46

Lista de Figuras

FIGURA 1 –	Esquema representativo do processo de lesão endotelial na pré-eclâmpsia	24
FIGURA 2 –	Correlação entre as concentrações séricas de bilirrubina total e de haptoglobina	47
FIGURA 3 –	Correlação entre as concentrações séricas da DHL e de haptoglobina	48
FIGURA 4 –	Correlação entre as concentrações séricas de hemoglobina e de haptoglobina.....	49
FIGURA 5 –	Curva ROC da haptoglobina para diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP	50

Lista de Abreviaturas

PGF2	Prostaglandina F2
12-HPETE	Ácido 12-hidroxi-peroxieicosatetranoico
PGI2	Prostaciclina 2
PGE2	Prostaglandina E2
ON	Óxido nítrico
ON-sintetase	Óxido nítrico sintetase
sFLT-1	Receptor solúvel da tirosinase quinase
sENG	Endoglina solúvel
VEGF	Fator de crescimento vascular endotelial
PIGF	Fator de crescimento placentário
DHL	Enzima desidrogenase láctica
TGO	Transaminase glutâmico-oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico-pirúvica
AST	Aspartato transaminase sérica
ALT	Alanina transaminase
GGT	Gama-glutamil transferase
CD 163	Receptor <i>scavenger</i>
HCFMB	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu
DUM	Data da última menstruação
HAC	Hipertensão arterial crônica
HG	Hipertensão gestacional
PE	Pré-eclâmpsia
HAC+PE	Hipertensão arterial crônica superposta por pré-eclâmpsia
NHBPEP	National High Blood Pressure Education Program
mm³	Milímetros cúbicos
mg/dL	Miligrama por decilitro

UI/L	Unidade por litro
mg	Miligrama
UNESP	Universidade Estadual de São Paulo
ELISA	Ensaio imunoenzimático
DP	Desvio padrão

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	19
1.1. Fisiopatologia da Pré-Eclâmpsia	21
1.2. Incidência da Síndrome HELLP.....	25
1.3. Diagnóstico da Síndrome HELLP.....	26
1.4. Exames Laboratoriais.....	27
1.5. O uso da Haptoglobina.....	29
2. OBJETIVOS.....	32
2.1. Objetivo Geral.....	33
2.2. Objetivo Específico.....	33
3. METODOLOGIA.....	34
3.1. Desenho do Estudo.....	35
3.2. Tamanho da Amostra.....	35
3.3. Seleção dos Sujeitos.....	35
3.4. Critérios de Inclusão.....	36
3.5. Critérios de Exclusão.....	36
3.6. Variáveis.....	37
3.7. Características da População Estudada.....	38
3.8. Definições (Nhbpep).....	39
3.9. Procedimento.....	41
3.10. Técnicas Laboratoriais.....	42
3.11. Análise Estatística.....	43
3.12. Aspectos Éticos.....	43
4. RESULTADOS.....	44
5. DISCUSSÃO.....	51
6. CONCLUSÃO.....	55
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

Resumo

INTRODUÇÃO: A síndrome HELLP é uma complicação severa da pré-eclâmpsia, caracterizada por hemólise, elevação das enzimas hepáticas e trombocitopenia. Apesar de haver padronização dos valores laboratoriais que definem a síndrome HELLP, ainda existe dificuldade para a caracterização da hemólise. **OBJETIVO:** Avaliar o valor de haptoglobina que determina a hemólise nas pacientes com síndrome HELLP. **MÉTODOS:** estudo transversal e prospectivo de gestantes e puérperas com de pré-eclâmpsia. Exame laboratorial avaliado: dosagem sérica de haptoglobina. Construção da curva ROC para determinar o valor de corte da haptoglobina para diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP. **RESULTADOS:** O valor da haptoglobina para diagnóstico de hemólise em pacientes com síndrome HELLP foi de 0,26g/L. **DISCUSSÃO:** A melhor correlação observada foi a haptoglobina com a DHL, indicando que este é o melhor marcador de hemólise intravascular para o diagnóstico da síndrome HELLP. **CONCLUSÃO:** A dosagem sérica da haptoglobina nos casos de pré-eclâmpsia deve fazer parte dos exames de rotina para diagnóstico de hemólise intravascular da síndrome HELLP.

Palavras-chave: Pré-eclâmpsia, Síndrome HELLP, Hemólise, Haptoglobina.

Abstract

CONTEXT: HELLP syndrome is a severe complication of pre-eclampsia, characterized by hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count. Although there are standardized laboratory values that define the HELLP syndrome, the difficulty still exists for the characterization of hemolysis.

PURPOSE: to evaluate the haptoglobin value to diagnose the hemolysis in HELLP syndrome. **METHODS:** transversal and prospective study of pregnant and post-delivery women with pre-eclampsia. Laboratory tests evaluated: serum haptoglobin. ROC curve to determine the cutoff value of haptoglobin in the diagnosis of hemolysis in HELLP syndrome. **RESULTS:** The haptoglobin value for hemolysis diagnosis in HELLP syndrome was 0.26 g / L. **DISCUSSION:** The best correlation was with haptoglobin and DHL, indicating that this is the best marker of intravascular hemolysis for the diagnosis of HELLP syndrome. **CONCLUSION:** Serum haptoglobin in cases of pre-eclampsia should be part of routine tests for diagnosis of intravascular hemolysis in HELLP syndrome.

Keywords: Pre-eclampsia, HELLP syndrome, Hemolysis, Haptoglobin.

1 Introdução

1. INTRODUÇÃO

A doença hipertensiva da gravidez é responsável pela alta incidência de morte materna em todo o mundo, principalmente nos países em desenvolvimento^{1,2}, sendo a principal causa da morbimortalidade perinatal². Além disso, está associada a graves complicações maternas como descolamento prematuro de placenta, edema agudo de pulmão, hemólise, plaquetopenia e comprometimento cerebral, cuja incidência varia entre 3 e 25 vezes maior quando comparadas com gestantes que não apresentam a doença hipertensiva³.

A pré-eclâmpsia é uma complicação frequente na gravidez, incidindo entre 2% e 10% das gestações⁴⁻⁹.

É uma doença sistêmica, caracterizada por múltiplas alterações no organismo materno e cujas manifestações clínicas iniciais se caracterizam por hipertensão arterial e proteinúria, que se manifestam na segunda metade da gestação¹⁰. Pode evoluir para manifestações graves como crise hipertensiva, iminência de eclâmpsia, eclâmpsia e síndrome HELLP.

Antes que Pritchard et al.(1954)¹¹ descrevessem em 29 pacientes, uma forma de pré-eclâmpsia grave que incluía alterações laboratoriais identificadas por hemólise, elevação das enzimas hepáticas e plaquetopenia em 29 pacientes, outros relatos de hemólise e trombocitopenia em pacientes com eclâmpsia já haviam sido descritos¹². Quase 30 anos após, Weinstein (1982)¹³ reuniu estas alterações sob o acrônimo de HELLP, significando H (hemólise), EL (aumento de enzimas hepáticas) e LP (trombocitopenia) e denominou-as de síndrome HELLP. Essa síndrome foi identificada como complicação da pré-eclâmpsia ou da eclâmpsia, sem se estabelecer os padrões bioquímicos e hematológicos para o diagnóstico¹³.

1.1. Fisiopatologia da pré-eclâmpsia

A exata fisiopatologia da síndrome HELLP não está estabelecida. Por ser considerada uma complicação da pré-eclâmpsia, sua origem é o desenvolvimento anormal da placentação, resultando em isquemia placentária e produção de estresse oxidativo¹⁴.

A literatura atual permite melhor compreensão da fisiopatologia desta síndrome. Assim, dados moleculares recentes associados a estudos anátomo-patológicos antigos orientam um esquema fisiopatológico constituído de várias etapas sucessivas.

Evidências sugerem que a lesão básica envolve o desenvolvimento anormal das artérias placentárias, desencadeando-se o evento inicial entre a 8ª e a 18ª semana de gestação¹⁵. Em gestações normais, as células trofoblásticas invadem a parede das arteríolas espiraladas miométriais substituindo parte de camada musculoelástica da parede do vaso. Esta substituição da camada musculoelástica permite que o vaso se dilate aumentando o fluxo sanguíneo para a placenta. Na pré-eclâmpsia, o trofoblasto não invade o suficiente as arteríolas espiraladas, quer por baixa agressividade ou por aumento da resistência do vaso. A falha na invasão trofoblástica impede a dilatação normal das arteríolas espiraladas, resultando em isquemia placentária¹⁴.

Jones (1998)¹⁶ descreveu em artigo de revisão que, a isquemia placentária causa aumento da liberação de substâncias vasoconstritoras como tromboxano A₂, angiotensina, prostaglandina F₂ (PGF₂), ácido 12-hidroxi-peroxieicosatetranoico (12-HPETE) e endotelina-1. Tromboxano A₂, angiotensina e PGF₂ são potentes vasoconstritores, enquanto o 12-HPETE atua

como inibidor da prostaciclina (PGI_2) que é vasodilatadora. No homem, a endotelina-1 é um dos mais potentes vasoconstritores endógenos (10 vezes mais potente que a angiotensina II). Concomitante a grande quantidade de substâncias vasoconstritoras secretadas, a placenta libera pequena quantidade de substâncias vasodilatadoras como a PGI_2 , prostaglandina E_2 (PGE_2) e óxido nítrico. PGI_2 é um potente vasodilatador, inibidor da agregação plaquetária e estabilizador da membrana endotelial. PGE_2 é um vasodilatador que também inibe a angiotensina. O óxido nítrico (ON) é um potente vasodilatador e antagonista da endotelina-1.

Pacientes com pré-eclâmpsia manifestam resposta anormal exagerada aos vasopressores¹⁷. Portanto, o balanço final entre o aumento da liberação placentária de vasoconstritores e o decréscimo da liberação de vasodilatadores resulta no vasoespasmo segmentar sistêmico intenso, causando hipertensão. Na sequência, o vasoespasmo e a hipertensão determinam o dano endotelial¹⁶.

Em artigo de revisão, Brandão et al. (2011)¹⁸ relataram que o endotélio é uma estrutura parácrina com função de regular o tônus arterial através da produção e liberação de óxido nítrico. Essa função é primordial para a boa evolução da gestação e adequada perfusão placentária e nutrição fetal. O ON é produzido a partir da L-arginina sob ação da enzima ON-sintetase. Um dos importantes mecanismos reguladores da ON-sintetase endotelial é o sistema renina-angiotensina. A angiotensina II, atuando nos receptores AT1, inibe a produção do ON, gerando vasoconstrição. Na fisiopatologia da pré-eclâmpsia, os autoanticorpos AT1 agem como agonistas destes receptores. O aumento desses autoanticorpos na circulação é um dos elementos que prejudicam a segunda onda

de invasão trofoblástica, evento que ocorre antes da lesão endotelial sistêmica. A hipóxia tecidual ocasiona aumento na produção de substâncias antiangiogênicas, particularmente o receptor solúvel da tirosinase quinase (sFLT-1). O desbalanço entre as concentrações de substâncias pró e anti angiogênicas é um fator crucial para a propagação da lesão endotelial. Além do sFLT-1, a endoglina solúvel (sENG) também exerce ação antiangiogênica. A determinação da concentração e da relação entre os fatores antiangiogênicos (sFLT-1 e sENG) associada à concentração dos fatores pró-angiogênicos (VEGF e PlGF) parece ser um método promissor de predição da pré-eclâmpsia. O aumento das concentrações circulantes de substâncias antiangiogênicas, associado com a desregulação no sistema renina-angiotensina comprometem a atividade da NO-sintetase causando lesão endotelial (Figura 1).

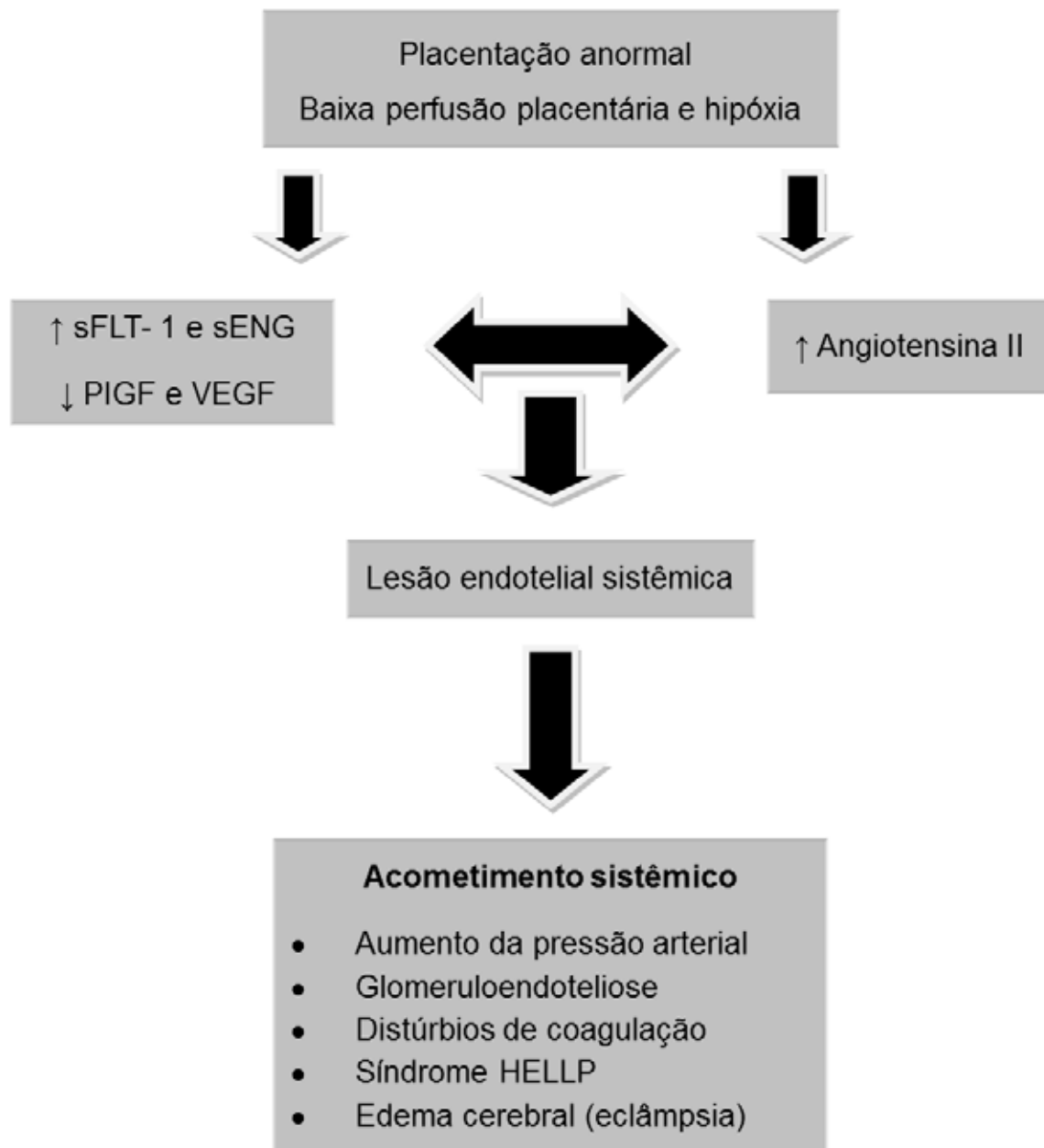


Figura 1- Esquema representativo do processo de lesão endotelial na pré-eclâmpsia

A lesão endotelial determina agregação plaquetária e depósito de fibrina no interior dos pequenos vasos, resultando em anemia hemolítica microangiopática (os eritrócitos são forçados a passar pelas barreiras de depósito de fibrina), isquemia de diversos órgãos e consumo plaquetário^{16,19}. Na síndrome HELLP, por razões desconhecidas, o fígado é um órgão alvo sensível a lesão isquêmica²⁰.

As condições clínicas da paciente rapidamente se deterioram, pois ocorre vasoconstrição sistêmica originada nos vasos placentários, com consequente liberação de mais substâncias vasoconstritoras pela placenta. Assim, um ciclo vicioso se forma e permanece até a placenta ser removida ou a paciente evoluir para óbito.

Acredita-se que o mecanismo descrito acima seja a causa da pré-eclâmpsia, na qual a síndrome HELLP é considerada uma forma evolutiva grave da mesma. No entanto, alguns autores acreditam que há um fator adicional envolvido na patogênese da síndrome HELLP, pois esta síndrome difere em alguns pontos importantes dos distúrbios identificados na pré-eclâmpsia. Por exemplo, a síndrome HELLP acomete pacientes de maior faixa etária, multíparas e brancas, diferentemente da epidemiologia da pré-eclâmpsia. A síndrome HELLP se intensifica 24 a 48 horas após a dequitação, enquanto que na pré-eclâmpsia os sintomas melhoram após a resolução da gestação^{16,21}.

1.2. Incidência da síndrome HELLP

Entre 0,2% a 0,6 % das gestações são acometidas pela síndrome HELLP^{14,22}. Entretanto, quando se considera gestantes com pré-eclâmpsia, a incidência da síndrome HELLP varia de 2% a 12%²²⁻²⁷. Esta variação decorre da utilização de pela literatura de diferentes critérios diagnósticos para a doença²⁸.

1.3. Diagnóstico da síndrome HELLP

O desafio do obstetra é fazer o diagnóstico preciso e precoce da síndrome HELLP, antes de surgirem as manifestações clínicas da doença, evitando, assim, desfechos maternos e fetais desfavoráveis. Na maioria das vezes, poucas anormalidades laboratoriais são encontradas nos estágios iniciais da síndrome HELLP, porém, estas alterações progridem de modo insidioso até a paciente apresentar trombocitopenia, quando evolui com rápida deterioração clínica e laboratorial¹⁹.

As manifestações clínicas da síndrome HELLP são imprecisas, entretanto, Sibai et al. (1986)²² identificaram, em relato de 112 casos de gestantes com pré-eclâmpsia grave, que 90% delas se queixavam de dor epigástrica ou em quadrante superior direito, 54% referiam náuseas e vômitos e 50% tinham cefaleia. A dor abdominal é causada pela obstrução do fluxo sanguíneo dentro do sinusóide hepático pelo depósito de fibrina e plaquetas, com consequente distensão da cápsula hepática^{29,30}.

A alta incidência de dor abdominal como sintoma de síndrome HELLP gera preocupação, pois muitas vezes é interpretada como uma alteração não obstétrica. Essa costuma preceder a anemia e outras anormalidades hematológicas. Entre os diagnósticos diferenciais estão hepatite aguda, hérnia de hiato, colelitíase, púrpura trombocitopênica idiopática, esteatose aguda amarela e síndrome hemolítica urêmica¹⁶.

Deve ser enfatizado que, embora a maioria dos pacientes com síndrome HELLP apresenta sinais de pré-eclâmpsia, a manifestação de hipertensão grave, proteinúria e edema não são achados constantes em todos os casos de síndrome

HELLP^{13,31-33}. Estas pacientes podem desenvolver trombocitopenia e apresentar concentrações elevadas de enzimas hepáticas sem nenhuma alteração ou alteração mínima dos valores da pressão arterial e sem proteinúria. Em casos raros a síndrome HELLP pode ser a única manifestação da pré-eclâmpsia¹⁶.

A intensidade maior dos sinais e sintomas da síndrome HELLP ocorre 24-48 horas após o parto. Surpreendentemente, mais de 30% das pacientes com a doença não apresentam qualquer sinal ou sintoma clínico até o período do pós-parto^{31,34}.

1.4. Exames laboratoriais

Na síndrome HELLP, a hemólise é caracterizada pela anemia microangiopática, cujos parâmetros diagnósticos são queda do hematócrito, hiperbilirrubinemia, aumento da enzima desidrogenase láctica (DHL) e presença de esquizócitos em esfregaço de sangue periférico. As alterações das enzimas hepáticas são definidas por aumento da transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) e/ou da transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) e da DHL, e a trombocitopenia pela redução do número de plaquetas.

Há divergência na literatura^{20,28,32,33,35,36} em relação aos critérios dos exames laboratoriais para o diagnóstico da síndrome HELLP. Sibai (1990)²⁸ e Audibert et al.(1996)¹⁵ propuseram critérios para o diagnóstico dessa síndrome, caracterizando hemólise por esfregaço de sangue periférico anormal, com presença de esquizócitos, ou aumento da bilirrubina sérica total (concentração sérica igual ou maior que 1,2mg/mL) ou elevação da concentração sérica da DHL (≥ 600 UI/L). A plaquetopenia foi definida quando a contagem de plaquetas estiver

abaixo de 100.000/mm³ e a elevação de enzima hepática quando a concentração sérica de aspartato aminotransferase se encontra acima de 70UI/mL. Estes critérios são adotados pelo Ministério da Saúde do Brasil³⁷.

Apesar da padronização dos valores laboratoriais que definem a síndrome HELLP^{28,33,37}, ainda é difícil o diagnóstico da hemólise. A identificação dos esquizócitos não é rotina na maioria dos serviços e não existe padronização quanto à sua identificação, quanto à metodologia a ser utilizada para se efetuar sua quantificação, à região do esfregaço onde a contagem deve ser estabelecida e ao número total de eritrócitos que devem ser analisados¹⁹

A definição de anemia por uma única amostra de sangue pode ter o viés da queda fisiológica dos valores do hematócrito e da concentração de hemoglobina durante a gravidez devido ao grande aumento do volume plasmático³⁸.

Alguns exames laboratoriais que avaliam a função hepática estão alterados durante a gravidez normal, como a aspartato transaminase sérica (AST), alanina transaminase (ALT), gama-glutamil transferase (GGT), e concentrações de bilirrubina ligeiramente inferiores em comparação com as concentrações em mulheres não grávidas^{39,40}. Esse achado pode dificultar a identificação da hiperbilirrubinemia, com bilirrubina total igual ou maior que 1,2 mg/mL, em casos de anemia hemolítica microangiopática da síndrome HELLP.

Observa-se aumento da DHL tanto nas lesões hepatocelulares, verificada na maioria de gestantes com pré-eclâmpsia grave ou eclâmpsia⁴¹, quanto na lise de hemácias, que apresentam alta concentração dessa enzima. De maneira geral, utiliza-se a elevação da concentração sérica do DHL total, usualmente acima de 600UI/L, como critério da hemólise, mas somente as frações DHL₁ e DHL₂ são liberados a partir de lise de células vermelhas^{42,43}.

1.5. O uso da haptoglobina

A haptoglobina é uma proteína de fase aguda (alfa 2-glicoproteína), produzida principalmente pelos hepatócitos, mas também por outros tecidos como rins, pulmões e pele, que se liga à hemoglobina após a hemólise⁴⁴. Essa ligação está entre as mais fortes interações não covalentes conhecidas no sistema biológico, tornando-a praticamente irreversível⁴⁴. Sua meia-vida é de dois a quatro dias⁴⁵.

A formação do complexo hemoglobina-haptoglobina evita reações peroxidativas, conhecidas por serem tóxicas para a maioria dos tecidos⁴⁴. Além disso, esse complexo impede a filtração e eliminação de dímeros de hemoglobina pelo rim, fazendo com que ocorra seu clearance pelo processo de endocitose por macrófagos do fígado e baço^{46,47}, através do receptor *scavenger* CD163, que tem alta afinidade pelo complexo. O grupo prostético heme da hemoglobina é decomposto em bilirrubina e monóxido de carbono, cujo efeito vasodilatador e antioxidante foi demonstrado⁴⁸.

Este fenômeno reduz drasticamente a concentração plasmática de haptoglobina^{45,49}. As situações em que se observa elevada concentração de hemoglobina livre no plasma geralmente acontecem após o sistema da haptoglobina estar descompensado, ou seja, o quadro de hemólise é tão intenso que sobrepõe à meia-vida e produção de mais haptoglobina⁴⁵.

Em 1987, Poldre⁵⁰ descreveu o caso de uma primigesta que, na 37^a semana de gestação apresentava dor em quadrante superior direito há cinco horas e pressão arterial 124x70 mmHg e sem edema periférico. Diagnosticou como síndrome HELLP por apresentar alterações laboratoriais caracterizadas por

aumento de enzimas hepáticas e plaquetopenia. Porém, seus exames laboratoriais de confirmação de hemólise não revelaram anemia, elevação de bilirrubinas ou da DHL. Entretanto, o esfregaço de sangue periférico apresentava evidências morfológicas (presença de esquizócitos) de anemia microangiopática. Para firmar este achado de hemólise intravascular determinou a concentração da haptoglobina sérica encontrando valor de 0,6g/L (abaixo do limite normal de 1,0g/L).

Wilke et al. (1992)⁵¹ verificaram concentração de haptoglobina inferior do valor de referência (0,7 a 3,2 mg/mL) em todas as 25 pacientes com diagnóstico de síndrome HELLP de seu estudo. Além disso, o decréscimo nos valores deste marcador foi maior (92%) que o decréscimo na concentração de plaquetas (24%). Outros trabalhos confirmaram este achado sugerindo que, a queda na concentração de haptoglobina precede o aparecimento da trombocitopenia ou a elevação da DHL e das bilirrubinas^{34,50}.

Marchand et al. (1980)⁴⁹ definiram como baixa concentração sérica de haptoglobina quando seu valor era igual ou menor que 25mg/dL para o diagnóstico de hemólise em algumas doenças como anemia hemolítica imune, anemia megaloblástica, esplenomegalia primária e hemólise mecânica, identificando sensibilidade de 83% e especificidade de 96%, com valores preditivos positivo e negativo de 87% e 95%, respectivamente. Porém, não faz referência à concentração deste marcador nos quadros de pré-eclâmpsia ou síndrome HELLP.

Muitos autores defendem que a baixa concentração de haptoglobina deveria fazer parte dos critérios diagnósticos para hemólise, além de níveis elevados de bilirrubina, DHL e esfregaço de sangue periférico com presença de esquizócitos^{13,28,29,32,36,45,51}

A haptoglobina é um marcador laboratorial sensível para detecção precoce de hemólise, inclusive na síndrome HELLP^{21,41,45,50-53}. Entretanto, alguns autores não trazem os valores de referência da concentração sérica da haptoglobina para o diagnóstico dessa complicação^{21,41,53} e, quando o referem, apresentam os limites inferiores de normalidade entre 0,25g/L⁵¹ e 1,0 g/L⁵⁰, com outros valores dentro dessa variação apresentada^{45,52}.

Nossa proposta é definir um valor da concentração sérica da haptoglobina para aumentar a acurácia no diagnóstico da hemólise de gestantes ou parturientes com síndrome HELLP.

2 Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o valor de haptoglobina que determinaria a hemólise nas pacientes com síndrome HELLP.

2.2. Objetivo Específico

Calcular a coeficiente de correlação da haptoglobina com outros marcadores utilizados para o diagnóstico de hemólise:

- desidrogenase láctica
- bilirrubina total
- hemoglobina

Construir a curva ROC para a determinação do ponto de corte da concentração da hemoglobina que corresponde à presença de hemólise em pacientes com síndrome HELLP.

3 Metodologia

3. METODOLOGIA

3.1. Desenho do estudo

Foi realizado um estudo transversal e prospectivo dos casos de gestantes e puérperas com diagnóstico de pré-eclâmpsia ou hipertensão gestacional, que receberam assistência na Maternidade de alto risco da Faculdade de Medicina de Botucatu.

3.2. Tamanho da amostra

Para o cálculo do tamanho amostral propusemos a sensibilidade da concentração de haptoglobina sérica para o diagnóstico de hemólise de 83%⁴⁹, aceitando-se erro de 8% e nível de significância de 5%. Assim, calculamos que seriam necessárias 100 amostras de sangue de pacientes com hipertensão gestacional ou pré-eclâmpsia.

3.3. Seleção dos sujeitos

Foram selecionadas as gestantes ou parturientes, com diagnóstico de hipertensão gestacional ou pré-eclâmpsia, internadas na Maternidade do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HCFMB) e que tinham indicação de coleta de exames laboratoriais para identificação de síndrome HELLP, conforme a rotina de exames laboratoriais do Serviço de Obstetrícia.

3.4. Critérios de inclusão

Foram incluídas no estudo as gestantes ou puérperas:

- com idade gestacional, na internação ou na resolução da gestação, igual ou maior que 22 semanas;
- com diagnóstico de hipertensão gestacional ou pré-eclâmpsia;
- que tinham indicação de coleta de exames laboratoriais para identificação de síndrome HELLP, conforme a rotina de exames laboratoriais do Serviço de Obstetrícia

3.5. Critérios de exclusão

Foram excluídas do estudo as gestantes ou puérperas que apresentaram anemia hemolítica intravascular não relacionada à gestação e com diagnóstico confirmado de:

- púrpura trombocitopênica trombótica;
 - síndrome hemolíticourêmica;
 - coagulação intravascular disseminada;
 - glomerulonefrite;
 - hipertensão maligna;
 - necrose cortical renal;
 - vasculites;
 - hemangiomas;
 - próteses e distúrbios de vasos de grande calibre.
-

3.6. Variáveis

Padrão ouro – Hemólise: foi considerado o diagnóstico de hemólise com as seguintes critérios:

Critério 1

- Desidrogenase láctica – a concentração sérica da DHL for igual ou maior que 600 UI/L, e
- Aspartato aminotransferase (AST) ou transaminase glutâmico oxalacética (TGO) – concentração sérica de AST/TGO menor que 70 UI/mL, e
- Alanina aminotransferase (ALT) ou transaminase glutâmico pirúvica (TGP) – concentração sérica de AST/TGO maior que 70 UI/mL, e/ou
 - Hemoglobina – a concentração sérica de hemoglobina for menor que 11g/dL;
 - Bilirrubina total – a concentração sérica de bilirrubina total for igual ou maior que 1,2 mg//dL;

Critério 2

- Desidrogenase láctica – a concentração sérica da DHL for igual ou maior que 600 UI/L, e
 - Aspartato aminotransferase (AST) ou transaminase glutâmico oxalacética (TGO) – concentração sérica de AST/TGO maior que 70 UI/mL, e/ou
 - Alanina aminotransferase (ALT) ou transaminase glutâmico pirúvica (TGP) – concentração sérica de AST/TGO maior que 70 UI/mL, e
-

-
- Hemoglobina – a concentração sérica de hemoglobina for menor que 11g/dL;
 - Bilirrubina total – a concentração sérica de bilirrubina total for igual ou maior que 1,2 mg//dL;

Exame laboratorial avaliado: dosagem sérica de haptoglobina (g/L).

3.7. Características da população estudada:

- idade materna em anos;
 - raça: foram consideradas branca e não branca;;
 - número de gestações: classificada em primigesta (primeira gestação) e multigesta (duas ou mais gestações);
 - idade gestacional em semanas: calculada pela data da última menstruação (DUM) ou por ultrassonografia precoce (antes da 20ª semana) no momento da coleta do exame ou do parto;
 - puerpério: para as puérperas foi considerado o dia após o parto.
 - classificação da manifestação de hipertensão arterial:
 - *hipertensão arterial crônica* (HAC): hipertensão arterial identificada antes da 20ª semana de gestação sem proteinúria;
 - *hipertensão gestacional* (HG): hipertensão arterial identificada após a 20ª semana de gestação sem proteinúria,
 - *pré-eclâmpsia* (PE): hipertensão arterial identificada após a 20ª semana de gestação com proteinúria;
-

- *hipertensão arterial crônica superposta por pré-eclâmpsia (HAC+PE):*
hipertensão arterial identificada antes da 20ª semana de gestação com proteinúria identificada na segunda metade da gravidez;
- classificação da hipertensão arterial de acordo com a gravidade – foram considerados casos leves ou graves.

3.8. Definições (NHBPEP, 2000)¹⁰

Hipertensão arterial - considerada quando a pressão arterial sistólica for igual ou maior que 140mmHg e/ou a pressão arterial diastólica igual ou maior que 90mmHg, avaliada após um período de repouso, com a paciente em posição sentada e manguito de tamanho adequado ao braço, em duas medidas com diferença de 4 horas entre elas. Foi considerada pressão arterial sistólica a ausculta do primeiro som (fase I de Korotkoff) e pressão arterial diastólica o valor obtido no desaparecimento do som (fase V de Korotkoff). Se os batimentos persistissem até o nível zero, a pressão diastólica foi considerada no abafamento do som (fase IV de Korotkoff).

Proteinúria - considerada quando identificada uma cruz de proteína em amostra isolada de urina ou quando encontrada 300mg, ou mais, de proteína em urina de 24 horas.

Pré-eclâmpsia - quando não houvesse história de hipertensão arterial anterior à gestação e a hipertensão arterial, acompanhada de proteinúria, se manifestou somente após a 20ª semana de gestação. Também considerou-se

pré-eclâmpsia quando mesmo na ausência de proteinúria, houve manifestação de eclâmpsia iminente, eclâmpsia ou síndrome HELLP.

Hipertensão gestacional ou Pré-eclâmpsia grave - quando presentes uma ou mais das situações abaixo:

- pressão arterial sistólica igual ou maior a 160mmHg;
 - pressão arterial diastólica igual ou maior a 110mmHg;
 - proteinúria igual ou maior que 2 g em urina de 24 horas;
 - sintomas de eclâmpsia iminente: alterações clínicas do sistema nervoso central (cefaléia, obnubilação, torpor, alteração de comportamento), visuais (escotomas, fosfenas, turvação da visão) e gástricas (dor epigástrica ou no hipocôndrio direito, náuseas e vômitos)
 - eclâmpsia: manifestação de crise convulsiva e/ou coma, na ausência de doença do sistema nervoso central;
 - restrição de crescimento intrauterino;
 - edema agudo pulmonar materno;
 - síndrome HELLP completa;
 - diagnóstico de síndrome HELLP parcial, aquela que pode apresentar uma das três alterações;
 - oligúria: diurese menor que 500mL em 24 horas;
-

Síndrome HELLP: para o diagnóstico de síndrome HELLP foi considerada a definição laboratorial de hemólise intravascular microangiopática com queda da hemoglobina e do número de eritrócitos sanguíneos, reticulocitose no sangue periférico, elevação da bilirrubinemia total, elevação da DHL:

- **Hemólise:** considerou-se o diagnóstico de hemólise conforme descrição acima.
- **Plaquetopenia:** definida como contagem de plaquetas menor que 100.000/mm³;
- **Elevação de enzimas hepáticas:** definida pela concentração de transaminase glutâmico-oxalacética ou glutâmico-pirúvica >70UI/L:

3.9. Procedimento

As gestantes que preencheram os critérios de inclusão foram convidadas a participar do estudo pelo investigador ou por outros profissionais pré-treinados. Após leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, foi colhida uma amostra de 5 mL de sangue para a dosagem de haptoglobina, além das amostras de sangue que foram colhidas para exames laboratoriais de rotina nos casos de gestantes ou puérperas com hipertensão arterial.

3.10. Técnicas Laboratoriais

As dosagens foram realizadas na Seção Técnica de Laboratório e Análises Clínicas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – SP:

- utilizou-se o contador automático Pentra 120 Retic, da ABX- Horiba
 - hemoglobina (g/dL), a contagem de reticulócitos (número relativo em % e número absoluto por mm³) e de plaquetas (mm³).
- utilizou-se equipamento Vitros® da Johnson & Johnson, pelo método de química seca
 - bilirrubina sérica total (mg/dL) ;
 - desidrogenase láctica (UI/L);
 - transaminase glutâmico-oxalacética (UI/L);
 - transaminase glutâmico-piruvica (UI/L).
- utilizou-se equipamento Vitros® da Johnson & Johnson, pelo método de reação colorimétrica vermelho de Pirogalol
 - proteinúria de 24 horas (mg).

Dosagem que foi realizada no Laboratório de Imunologia do Instituto de Biociências de Botucatu/UNESP:

- haptoglobina (mg/dL), utilizou-se o contador automático Pentra 120 Retic, da ABX- Horiba, por ensaio imunoenzimático (ELISA), empregando-se o kit Assay Max Human Haptoglobulin (AssayPro, Saint Charles, Missouri, USA) de acordo com as instruções do fabricante.

3.11. Análise estatística

Para análise estatística foi utilizado o programa Statistical Package in Social Science para Windows (SPSS Inc, Chicago) versão 10.0, com o qual foram calculadas as proporções para as variáveis dicotômicas e médias para as variáveis contínuas. Para as análises de correlação foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson. A construção da curva ROC e o cálculo da área sob a curva foram realizados para a determinação do ponto de corte da concentração sérica de hemoglobina para o diagnóstico de síndrome HELLP. Foi considerado nível de significância de 5%.

3.12. Aspectos éticos

O projeto foi submetido para apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – SP. Toda gestante foi informada sobre o projeto e, uma vez ciente e de acordo, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para ser sujeito da pesquisa. (Anexo 1).

4 Resultados

4. RESULTADOS

Características das participantes (Tabela 1)

Foram incluídas no estudo 132 gestantes com idade entre 13 e 43 anos (idade média de $26 \pm 7,1$ anos), sendo que mais da metade (51,5%) apresentava idade entre 21 e 30 anos. A maioria das mulheres era primigesta (53,8%) e da raça branca (73,6%).

A idade gestacional variou entre 23 e 42 semanas (média de 34 ± 4 semanas), predominando gestações com menos de 37 semanas (57,6%).

A maioria das gestantes apresentava pré-eclâmpsia em sua forma isolada (82,6%) e 23 (17,4%) hipertensão arterial crônica superposta por pré-eclâmpsia (HAC+PE). Quanto à classificação da pré-eclâmpsia de acordo com a gravidade, 87 (65,9%) gestantes foram classificadas como graves e 34,1% como leve.

Tabela 1 – Características da população de gestantes estudada.

Características	Média	DP	Mínimo	Máximo
Idade materna (anos)	26,0	7,1	13	43
Idade Gestacional (semanas)	34,9	4,0	23	42

Características	N	%
Faixa Etária		
Igual ou menor a 21 anos	33	25,0
Entre 21 a 30 anos	68	51,5
Entre 31 a 40 anos	27	20,5
Acima de 40 anos	4	3,0
Faixa Idade Gestacional		
22 a 27 semanas	9	6,8
28 a 33 semanas	36	27,3
34 a 36 semanas	31	23,5
37 semanas ou mais	56	42,4
Paridade		
Primigesta	71	53,5
Múltipara	61	42,5
Raça		
Branca	89	73,6
Não Branca	32	26,4
Tipo de hipertensão		
Pré-eclâmpsia	109	82,6
HAC + PE	23	17,4
Gravidade da hipertensão		
Grave	87	65,9
Leve	45	34,1

Análise das Correlações

O estudo da correlação identificou relação negativa entre a bilirrubina total e a haptoglobina (Figura 1), com baixo coeficiente de correlação negativo ($r = -0,188$) e significativo ($p = 0,016$).

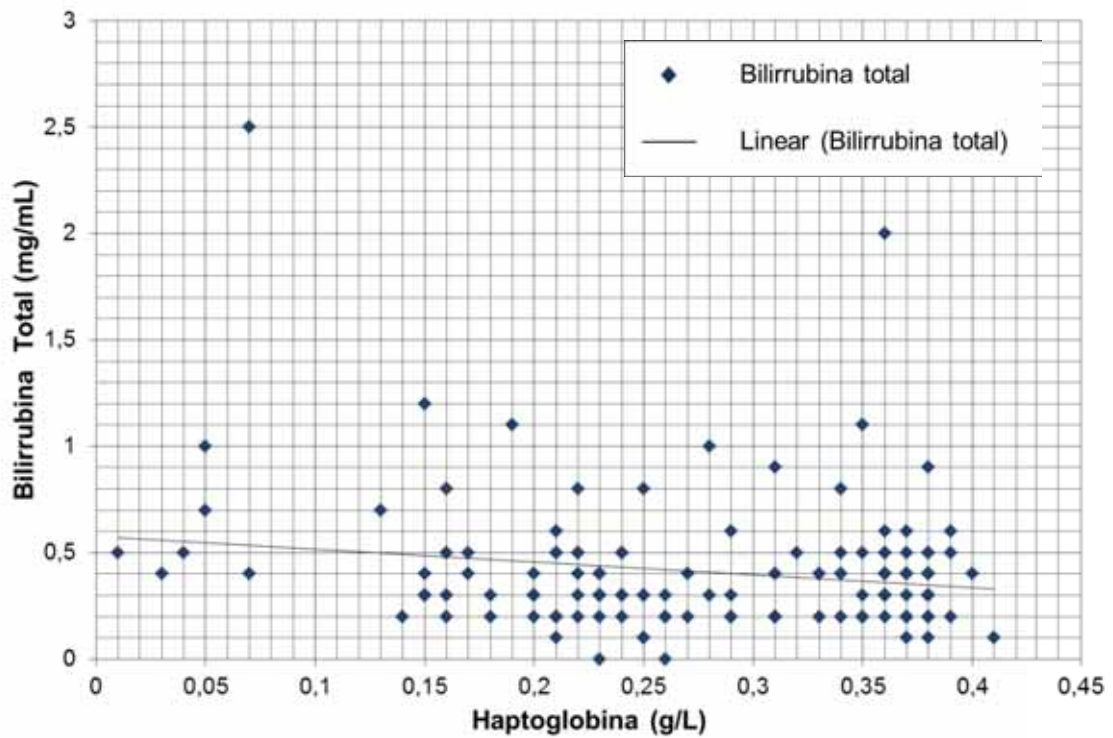


Figura 2 – Correlação entre as concentrações séricas de bilirrubina total e de haptoglobina.

Também encontramos coeficiente de correlação negativo ($r = -0,238$) e com significância estatística ($p = 0,003$) para a correlação entre a concentração sérica da DHL e da haptoglobina (Figura 2).

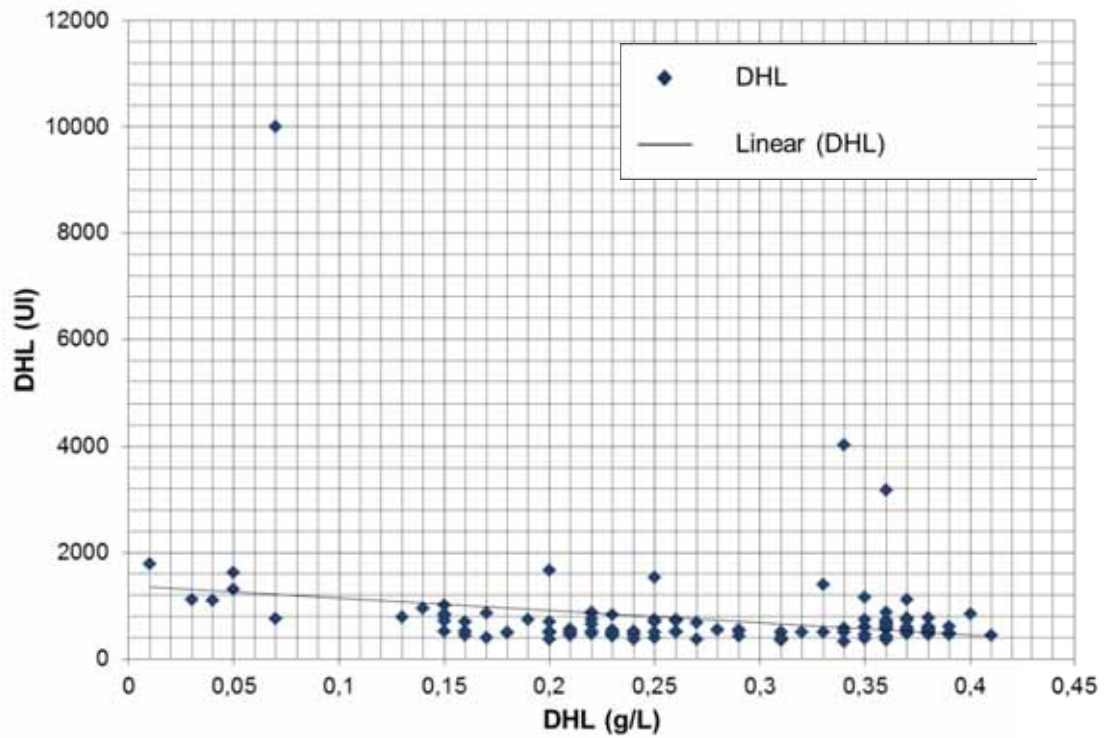


Figura 3 – Correlação entre as concentrações séricas da DHL e de haptoglobina.

O coeficiente de correlação entre a dosagem de hemoglobina e de haptoglobina (Figura 3) foi negativo ($r = -0,060$) e não foi estatisticamente significativo ($p = 0,246$).

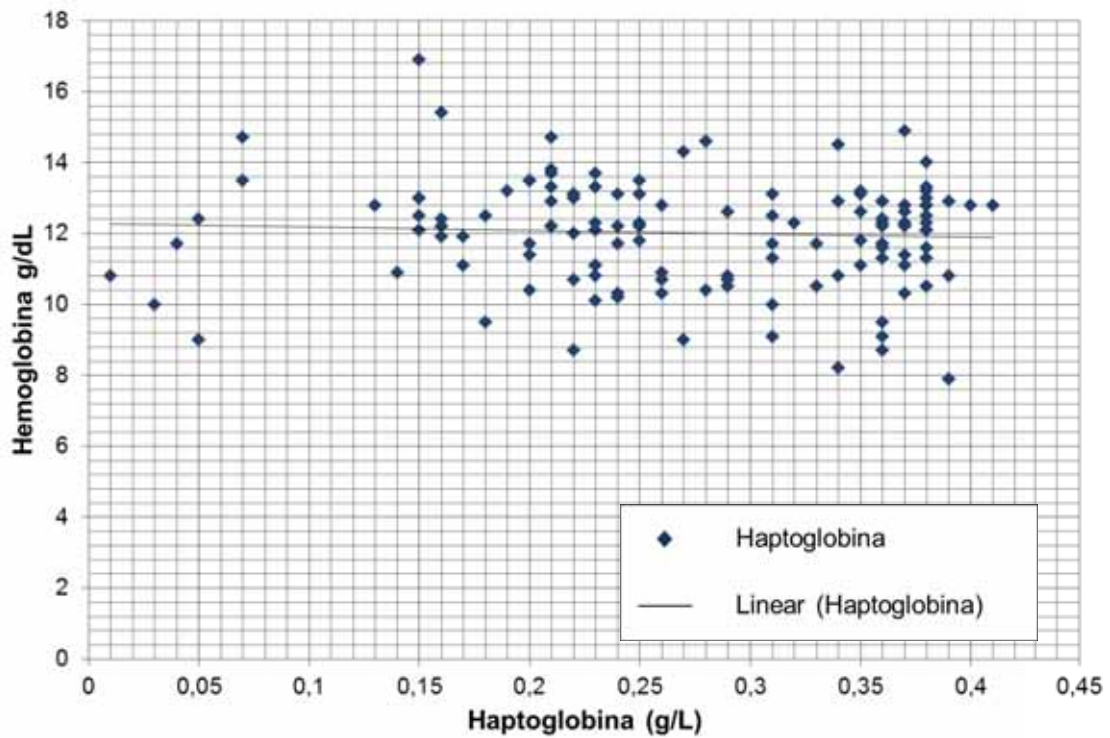


Figura 4 – Correlação entre as concentrações séricas de hemoglobina e de haptoglobina.

Análise da curva ROC

A demonstração da haptoglobina quanto a sua capacidade de diagnosticar a hemólise na síndrome HELLP encontra-se na Figura 4. A área sob a curva foi de 0,645 (IC95% 0,536 - 0,753).

O valor de referência para diagnóstico de hemólise em pacientes com síndrome HELLP foi de 0,26 g/L. A sensibilidade e especificidade para esse valor foi de 60% e 61%, respectivamente.

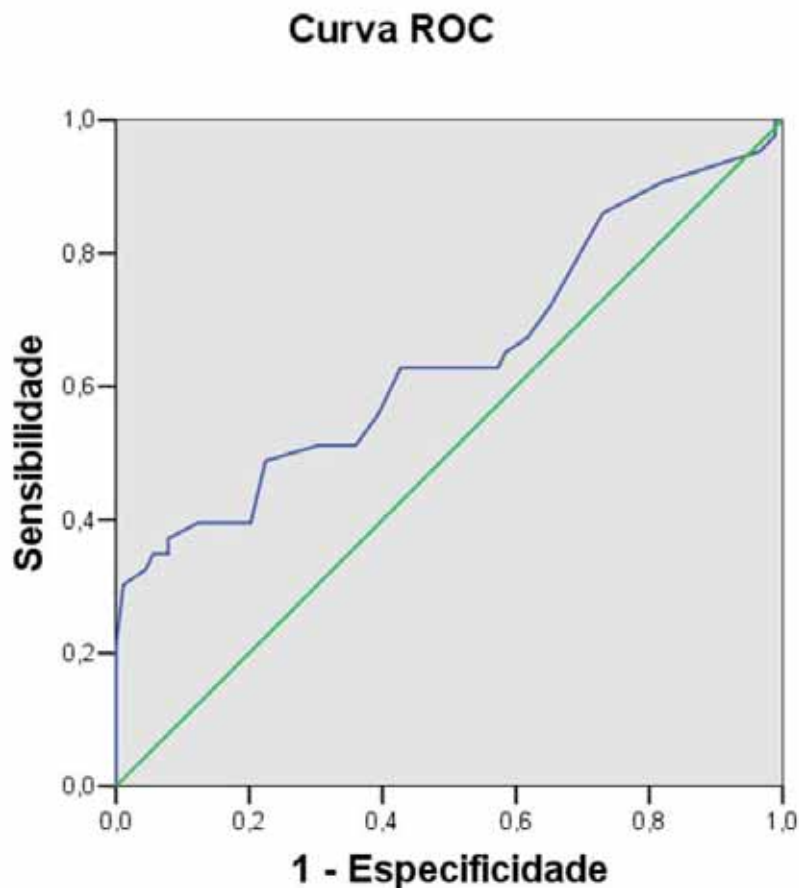


Figura 5 – Curva ROC da haptoglobina para o diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP.

5 Discussão

5. DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que as correlações entre a haptoglobina e as concentrações séricas da bilirrubina total, hemoglobina e DHL são fracas, porém são estatisticamente significantes, com exceção da correlação com a bilirrubina total. Além disso, mesmo com a área sob a curva apresentando significância estatística, a curva ROC apresenta baixos valores para a sensibilidade (60%) e especificidade (61%).

Apesar de a síndrome HELLP ser uma complicação reconhecidamente grave da hipertensão gestacional ou da pré-eclâmpsia, seu diagnóstico ainda é difícil e inconsistente, principalmente com relação à hemólise. Os parâmetros para o diagnóstico da elevação da concentração sérica das enzimas hepáticas e da plaquetopenia são mais criteriosos e específicos, não se verificando o mesmo com o diagnóstico da hemólise.

O mais importante marcador de hemólise, para a definição do padrão ouro em nossa pesquisa, foi a concentração sérica da DHL, o que está em acordo com outros estudos^{45,53-56} e protocolos de conduta³⁷, que também utilizam o aumento da DHL como principal, senão o único^{21,36,57}, marcador da hemólise.

Como acontece com outras proteínas utilizadas como marcadores de lesão tecidual, a concentração da DHL no soro se altera apenas após a hipóxia prolongada, aumentando em condições clínicas como doenças cardiorrespiratórias, alguns tipos de câncer e hemólise como complicação de doenças hepáticas, renais, pulmonares e musculares⁴³.

A agressão às células hepáticas, conseqüente à hipóxia causada pelo aumento da resistência vascular periférica e pelo depósito de fibrina nos sinusóides hepáticos²⁹, promove dano à membrana dos hepatócitos, resultando em aumento da permeabilidade e liberação em grandes quantidades das aminotransferases no sangue e em menor quantidade da desidrogenase láctica⁵⁸.

A hemólise contribui substancialmente para o aumento da concentração da DHL, entretanto se considerarmos o aumento da concentração sérica das aminotransferases (AST e ALT), essa elevação da DHL pode ser conseqüência também da lesão hepática⁴³.

Para se distinguir a DHL proveniente da hemácia da proveniente do fígado deveríamos identificar as isoformas da DHL pela eletroforese, considerando que as isoenzimas DHL₁ e DHL₂ são predominantemente das células cardíacas e eritrócitos, enquanto que as DHL₄ e DHL₅ da lesão hepática^{42,43}.

Diante da dificuldade de identificação das isoenzimas da DHL, o que pode determinar interpretação errônea de ocorrência de hemólise, a opção de exame laboratorial para auxiliar o diagnóstico da hemólise como componente da síndrome HELLP é a dosagem da haptoglobina sérica, que deve estar reduzida ou não detectável nos casos de hemólise intravascular. Por isso, a melhor correlação que observamos foi a da haptoglobina com a DHL, apesar do seu coeficiente baixo, o que indica ser este o melhor marcador de hemólise intravascular para o diagnóstico da síndrome HELLP.

Se a hemólise é predominantemente intravascular, a concentração sérica de hemoglobina pode estar normal ou até extremamente diminuída, a concentração de DHL está aumentada e a da haptoglobina reduzida. Em

contraste, a concentração de bilirrubina pode ser normal ou apenas moderadamente aumentada. O principal sinal da resposta eritropoiética pela medula óssea, frente à hemólise intravascular, é o aumento de reticulócitos⁵⁹. Essas seriam as possíveis razões para a falta de significância entre os coeficientes de correlação da haptoglobina com a bilirrubina e com a hemoglobina.

Portanto, nossos resultados permitem afirmar que, a concentração sérica de haptoglobina em gestantes com pré-eclâmpsia, para o diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP, deve ser inferior a 0,26g/L, valor semelhante ao utilizado por Wilke et al.⁵¹ e inferior aos relatados por outros autores^{45,50,52}.

Embora nossos resultados indiquem a necessidade de mais estudos, entendemos que a associação da dosagem da concentração sérica da DHL e da haptoglobina pode melhorar a acurácia do diagnóstico de hemólise em casos de pré-eclâmpsia, substituindo a dosagem da bilirrubina total, que parece ter pouca relevância no diagnóstico da hemólise intravascular aguda, como acontece na síndrome HELLP ou em outras situações clínicas.

6 Conclusão

6. CONCLUSÃO

A dosagem sérica da haptoglobina nos casos de mulheres com pré-eclâmpsia deve fazer parte dos exames colhidos rotineiramente para identificar os casos de hemólise intravascular da síndrome HELLP e seu valor de referência de seria de 0,26g/L.

7 Referências Bibliográficas

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol.* 2009;33(3):130-7. doi:10.1053/j.semperi.2009.02.010.
 2. CMACE. Saving mothers' lives. *Br J Obstet Gynaecol.* 2011;118(March):1-203.
 3. Duley L. Maternal mortality associated with hypertensive disorders of pregnancy in Africa, Asia, Latin America and the Caribbean. *Br J Obstet Gynaecol.* 1992;99(7):547-53.
 4. Saftlas AF, Olson DR, Franks AL, Atrash HK, Pokras R. Epidemiology of preeclampsia and eclampsia in the United States, 1979-1986. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;163(2):460-465. doi:10.1016/0002-9378(90)91176-D.
 5. Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gülmezoglu a M, Van Look PF a. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet.* 2006;367(9516):1066-74. doi:10.1016/S0140-6736(06)68397-9.
 6. Steegers E a P, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2010;376(9741):631-44. doi:10.1016/S0140-6736(10)60279-6.
 7. Ghulmiyyah L, Sibai B. Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia. *Semin Perinatol.* 2012;36(1):56-9. doi:10.1053/j.semperi.2011.09.011.
 8. Lisonkova S, Joseph KS. Incidence of preeclampsia: risk factors and outcomes associated with early- versus late-onset disease. *Am J Obstet Gynecol.* 2013;209(6):544.e1-544.e12. doi:10.1016/j.ajog.2013.08.019.
 9. Vikse BE. Pre-eclampsia and the risk of kidney disease. *Lancet.* 2013;382(9887):104-6. doi:10.1016/S0140-6736(13)60741-2.
-

10. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(1):s1-s22. doi:10.1067/mob.2000.107928.
 11. Pritchard J, Weisman R, Ratnoff O, Vosburgh G. Intravascular hemolysis, thrombocytopenia and other hematologic abnormalities associated with severe toxemia of pregnancy. *N Engl J Med.* 1954;250(3):89-98. doi:10.1056/NEJM195401212500301.
 12. Stahnke E. Über das Verhalten der blutplättchen bei Eklampsie. *Zbl Gynäk.* 1922;46:391-392.
 13. Weinstein L. Syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count: a severe consequence of hypertension in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1982;142(2):159-67.
 14. Benedetto C, Marozio L, Tancredi A, et al. Biochemistry of HELLP syndrome. *Adv Clin Chem.* 2011;53:85-104.
 15. Audibert F, Friedman SA, Frangieh AY, Sibai BM. Clinical utility of strict diagnostic criteria for the HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;175(2):460-4.
 16. Jones S. HELLP! A cry for laboratory assistance: a comprehensive review of the HELLP syndrome highlighting the role of the laboratory. *Hematop Mol Hematol.* 1998;11(3-4):147-71.
 17. Faas MM, Schuiling GA. Pre-eclampsia and the inflammatory response. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001;95(2):213-7.
 18. Brandão A, Cabral M, Vieira A. O endotélio vascular e seu papel-chave na fisiopatologia da pré-eclâmpsia. *FEMINA.* 2011;39(4):217-21.
-

-
19. Silva R, Resende L, Abbade J, Peraçoli J. Significado da presença de esquizócitos no sangue periférico de gestantes com. *RBGO*. 2008;30(8):406-412.
 20. Martin JN, Rinehart BK, May WL, Magann EF, Terrone D a, Blake PG. The spectrum of severe preeclampsia: comparative analysis by HELLP (hemolysis, elevated liver enzyme levels, and low platelet count) syndrome classification. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180(6 Pt 1):1373-84.
 21. Baxter JK, Weinstein L. HELLP Syndrome: The State of the Art. 2004;59(12):838-845.
 22. Sibai BM, Taslimi MM, El-Nazer A, Amon E, Mabie BC, Ryan GM. Maternal-perinatal outcome associated with the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets in severe preeclampsia-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1986;155(3):501-9.
 23. Thiagarajah S, Bourgeois FJ, Harbert GM, Caudle MR. Thrombocytopenia in preeclampsia: associated abnormalities and management principles. *Am J Obstet Gynecol*. 1984;150(1):1-7.
 24. Parpinelli MA, Silva JLP, Pereira B, Rodrigues F, Torres J. Distúrbio hipertensivo na gravidez acompanhado por síndrome HELLP. *Rev Bras Ginecol Obs*. 1994;16:129-34.
 25. Roberts WE, Perry KG, Woods JB, Files JC, Blake PG, Martin JN. The intrapartum platelet count in patients with HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) syndrome: Is it predictive of later hemorrhagic complications? *Am J Obstet Gynecol*. 1994;171(3):799-804. doi:10.1016/0002-9378(94)90101-5.
 26. Takiuti N, Kahhale S, Carrara W, Alves E, Zugaib M. Resultados materno-fetais. *Rev Lat Perinat*. 1994;14:13-19.
-

-
27. Santos L, Cardoso M, Carvalho M, Porto A, Azevedo E. HELLP síndrome. *GO Atual*. 1997;10:20-29.
 28. Sibai BM. The HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets): much ado about nothing? *Am J Obstet Gynecol*. 1990;162(2):311-6.
 29. Aarnoudse JG, Houthoff HJ, Weits J, Vellenga E, Huisjes HJ. A syndrome of liver damage and intravascular coagulation in the last trimester of normotensive pregnancy. A clinical and histopathological study. *Br J Obstet Gynaecol*. 1986;93(2):145-55.
 30. Curtin W, Weinstein L. A review of HELLP syndrome. *J Perinatol*. 1999;19(2):138-143.
 31. Sibai BM, Ramadan MK. Acute renal failure in pregnancies complicated by hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets. *Am J Obstet Gynecol*. 1993;168(6 Pt 1):1682-7; discussion 1687-90.
 32. Visser W, Wallenburg H. Temporising management of severe pre-eclampsia with and without the HELLP syndrome. *Br J Obstet Gynaecol*. 1995;102(2):111-7.
 33. Audibert F, Friedman S a, Frangieh a Y, Sibai BM. Clinical utility of strict diagnostic criteria for the HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;175(2):460-4.
 34. Rath W, Loos W, Kuhn W, Graeff H. The importance of early laboratory screening methods for maternal and fetal outcome in cases of HELLP syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1990;36(1-2):43-51.
 35. Tsatsaris V, Carbonne B, Dupré La Tour M, Cabrol D, Milliez J. Is conservative treatment of HELLP syndrome safe? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1998;80(2):139-41.
-

-
36. Barton JR, Sibai BM. Diagnosis and management of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *Clin Perinatol*. 2004;31(4):807-33, vii. doi:10.1016/j.clp.2004.06.008.
 37. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. *Gestação de Alto Risco Manual Técnico*. 5a ed. (Ministerio da Saúde, ed.). Brasília (DF); 2010:302.
 38. Huisman A, Aarnoudse J, Heuvelmans J, et al. Whole blood viscosity during normal pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol*. 1987;94(12):1143-9.
 39. Girling J, Dow E, Smith J. Liver function tests in pre-eclampsia: importance of comparison with a reference range derived for normal pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol*. 1997;104(2):246-50.
 40. Ruiz-Extremera A, López-Garrido MA, Barranco E, et al. Activity of hepatic enzymes from week sixteen of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;193(6):2010-6. doi:10.1016/j.ajog.2005.04.045.
 41. Sibai BM. Diagnosis, controversies, and management of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. *Obstet Gynecol*. 2004;103(5 Pt 1):981-91. doi:10.1097/01.AOG.0000126245.35811.2a.
 42. Lott J, Nemensanszky E. Lactate dehydrogenase. In: Lott J, Wolf P, eds. *Clinial Enzimology, a Case-Oriented Approach*. 1st Ed. New York: Wolfe Medical Publications; 1986:213-244.
 43. Nelson D, Cox M. Bioenergetics and Biochemical Reaction Types. In: *Lehninger - Principles of Biochemistry*. 5th Ed. New York: W.H. Freeman and Company; 2008:489-526.
 44. Wicher KB, Fries E. Evolutionary aspects of hemoglobin scavengers. *Antioxid Redox Signal*. 2010;12(2):249-59. doi:10.1089/ars.2009.2760.
-

-
45. Schröcksnadel H, Sitte B, Steckel-Berger G, Dapunt O. Hemolysis in hypertensive disorders of pregnancy. *Gynecol Obstet Invest.* 1992;34(4):211-6.
 46. Kristiansen M, Graversen JH, Jacobsen C, et al. Identification of the haemoglobin scavenger receptor. *Nature.* 2001;409(6817):198-201. doi:10.1038/35051594.
 47. Schaer C a, Vallelian F, Imhof A, Schoedon G, Schaer DJ. CD163-expressing monocytes constitute an endotoxin-sensitive Hb clearance compartment within the vascular system. *J Leukoc Biol.* 2007;82(1):106-10. doi:10.1189/jlb.0706453.
 48. Boretti FS, Buehler PW, D'Agnillo F, et al. Sequestration of extracellular hemoglobin within a haptoglobin complex decreases its hypertensive and oxidative effects in dogs and guinea pigs. *J Clin Invest.* 2009;119(8):2271-80. doi:10.1172/JCI39115.
 49. Marchand A, Galen RS, Van Lente F. The predictive value of serum haptoglobin in hemolytic disease. *JAMA.* 1980;243(19):1909-11.
 50. Poldre PA. Haptoglobin helps diagnose the HELLP syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1987;157(5):1267.
 51. Wilke G, Rath W, Schutz E, Armstrong VW, Kuhn W. Haptoglobin as a sensitive marker of hemolysis in HELLP-syndrome. *Int J Gynaecol Obstet.* 1992;39(1):29-34.
 52. Deruelle P, Coudoux E, Ego A, Houfflin-Debarge V, Codaccioni X, Subtil D. Risk factors for post-partum complications occurring after preeclampsia and HELLP syndrome. A study in 453 consecutive pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006;125(1):59-65. doi:10.1016/j.ejogrb.2005.07.011.
-

-
53. Abildgaard U, Heimdal K. Pathogenesis of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count (HELLP): a review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013;166(2):117-23.
 54. Martin JN, Blake PG, Perry KG, McCaul JF, Hess LW, Martin RW. The natural history of HELLP syndrome: patterns of disease progression and regression. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;164(6 Pt 1):1500-9; discussion 1509-13.
 55. Martin JN, Rinehart BK, May WL, Magann EF, Terrone DA, Blake PG. The spectrum of severe preeclampsia: comparative analysis by HELLP (hemolysis, elevated liver enzyme levels, and low platelet count) syndrome classification. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180(6 Pt 1):1373-84.
 56. Katz L, Amorim M, Souza JP, Haddad SM, Cecatti JG. COHELLP: collaborative randomized controlled trial on corticosteroids in HELLP syndrome. *Reprod Health.* 2013;10:28. doi:10.1186/1742-4755-10-28.
 57. Haram K, Svendsen E, Abildgaard U. The HELLP syndrome: clinical issues and management. A Review. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2009;9:8. doi:10.1186/1471-2393-9-8.
 58. Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of Liver Function. In: Longo D, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J, eds. *Harrison's - Principles of Internal Medicine.* 18th Ed. New York: The McGraw-Hill; 2012:2527-31.
 59. Luzzatto L. Hemolytic Anemias and Anemia Due to Acute Blood Loss. In: Longo D, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J, eds. *Harrison's - Principles of Internal Medicine.* 18th Ed. New York: The McGraw-Hill; 2012:872-86.
-

Anexo

ANEXO I

FACULDADE DE MEDICINA DE
BOTUCATU -UNESP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Determinação do valor da haptoglobina sérica para diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP

Pesquisador: Joelcio Francisco Abbade

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 15850613.1.0000.5411

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

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 272.459

Data da Relatoria: 15/05/2013

Apresentação do Projeto:

Igual a versão anterior

Objetivo da Pesquisa:

Igual a versão anterior

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Igual a versão anterior

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Igual a versão anterior

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O pesquisador acrescentou no Termo de Consentimento o endereço do CEP.

Não há necessidade de tanto detalhamento no Termo de Consentimento dos riscos de retirada de sangue.

Recomendações:

Sugiro aprovação.

Apenas recomendar ao pesquisador para deixar espaço no Termo para sua assinatura.

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br

FACULDADE DE MEDICINA DE
BOTUCATU -UNESP



Continuação do Parecer: 272.459

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

não há

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto de Pesquisa aprovado em reunião extraordinária do CEP de 15/05/2013, sem necessidade de envio à CONEP

Recomendamos aos pesquisadores que deixe espaço no Termo para sua assinatura.

BOTUCATU, 15 de Maio de 2013

Assinador por:
Trajano Sardenberg
(Coordenador)

Endereço: Chácara Butignolli , s/n

Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

UF: SP **Município:** BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br