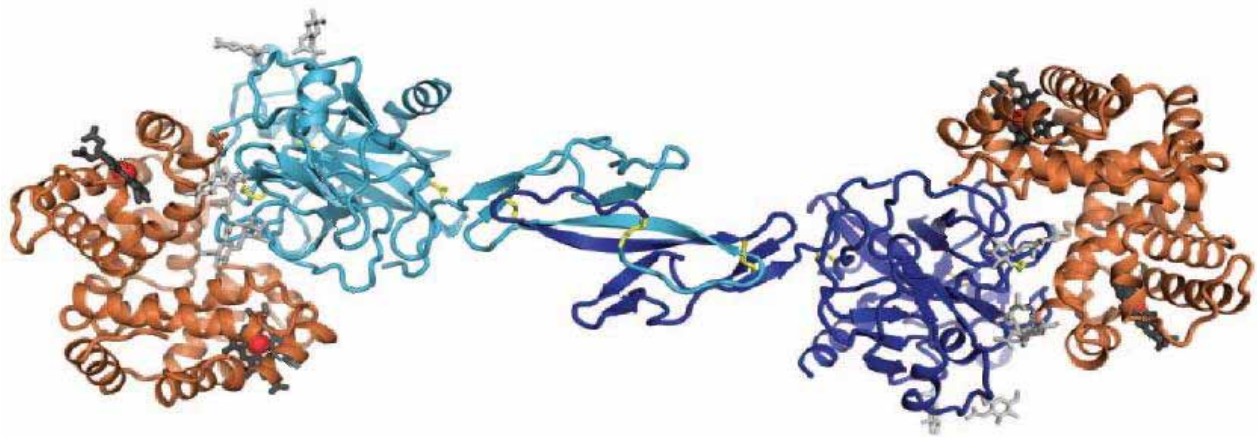


THAIS TIEMI HIGA

**EFICÁCIA DA HAPTOGLOBINA COMO
MARCADOR DE HEMÓLISE NO DIAGNÓSTICO
DA SÍNDROME HELLP**



Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Terezinha Serrão Peraçoli

Botucatu
2013

THAIS TIEMI HIGA

**EFICÁCIA DA HAPTOGLOBINA COMO
MARCADOR DE HEMÓLISE NO DIAGNÓSTICO
DA SÍNDROME HELLP**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de
Microbiologia e Imunologia do Instituto
de Biociências de Botucatu,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” – UNESP - para
obtenção do título de Bacharel em
Ciências Biomédicas.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Maria Terezinha Serrão Peraçoli

Botucatu

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Higa, Thais Tiemi.

Eficácia da haptoglobina como marcador de hemólise no diagnóstico da síndrome HELLP / Thais Tiemi Higa. - Botucatu, 2013

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biomédicas) -
Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Maria Terezinha Serrão Peraçoli

Capes: 40101150

1. Pré-eclâmpsia. 2. Hemólise e hemolisinas. 3. Síndrome HELLP. 4.
Mulheres grávidas. 5. Gravidez – Complicações.

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

Aos meus pais, Irene e Pedro, com amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente à minha orientadora, Prof^a Maria Terezinha Serrão Peraçoli, por ter dividido seus conhecimentos, tanto científicos como de vida, além de ser um exemplo de humildade, dedicação e sabedoria. E ao Prof. Dr. José Carlos Peraçoli, pela idealização e grande contribuição para a realização desse projeto.

Aos meus queridos pais, Irene e Pedro, que me ensinaram a sempre batalhar pelos meus objetivos, e que com tanto amor, incentivo e compreensão fizeram com que eu concluísse mais essa etapa em minha vida, amo muito vocês! Gostaria de agradecer principalmente à minha mãe, por ser minha inspiração de vida, sou o resultado de sua força e confiança.

A toda minha família, meus amados avós, tios, tias, primos e primas que sempre me ajudaram e incentivaram a ir mais longe, obrigada pelos ensinamentos e conselhos. À minha irmã, Nathalia, pela paciência e companheirismo. Sem esquecer o Floki e o Tommy, por só me darem alegrias.

À minha querida amiga Soraya, por ser uma irmã e companheira de vida, obrigada por todos esses anos de amizade, pelas risadas, choros, crises e pela imensa paciência comigo.

Às minhas irmãs de república e agregadas, Camila (Trolha), Marina (Babalu), Érica (Tosa), Jussara (Godira), Marina (Push), Amanda (Lelek), Lina (Húngara), Luísa (Épica), Larissa (Lecê) e Bárbara (Wendy). Nesses quatro anos de graduação, muitos passaram e deixaram um pouco de si comigo, cresci e aprendi muito com vocês. Obrigada por toda a diversão, companheirismo e amizade.

Aos meus amigos do Lab 3, Célio, Ingrid, Mariana, Mariana Letícia, Priscila e Vanessa, por toda a ajuda na realização desse projeto e por proporcionarem um ambiente de trabalho tão divertido e descontraído.

Às gestantes, que participaram deste trabalho, fazendo com que este estudo se tornasse possível.

Ao Prof. Newton Key Hokama, por todo o auxílio e dedicação, sempre disposto a ajudar.

A todos os docentes, funcionários e colegas do Departamento de Microbiologia e Imunologia, pelos ensinamentos, ajuda e pela boa convivência.

EPÍGRAFE

“O futuro pertence àqueles que acreditam na beleza de seus
sonhos”

Eleanor Roosevelt

RESUMO

Introdução: A síndrome HELLP é uma complicação grave em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia (PE), caracterizada por associação de hemólise, alteração de enzimas hepáticas e trombocitopenia. A hemólise, definida pela presença de anemia hemolítica microangiopática, é uma das características da síndrome. Entretanto, ainda existe dificuldade para a detecção da hemólise, uma vez que esta ocorre em curto espaço de tempo, sendo difícil constatá-la no diagnóstico laboratorial. Portanto, a busca por um método mais sensível e específico pode auxiliar no diagnóstico precoce da síndrome.

Objetivos: a) Determinar a concentração plasmática de haptoglobina em gestantes normotensas e portadoras de PE, classificadas em PE leve, PE grave e com diagnóstico de síndrome HELLP/HELLP parcial; b) Comparar a eficácia entre a concentração plasmática de haptoglobina e de bilirrubina total, como parâmetros do diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP/HELLP parcial.

Métodos: Foi realizado estudo transversal, analítico e comparativo envolvendo 66 gestantes com diagnóstico de PE, sendo 25 casos de PE leve, 28 de PE grave e 13 com síndrome HELLP parcial ou síndrome HELLP. Foram incluídas 21 gestantes normotensas, para comparação da concentração plasmática da haptoglobina entre os grupos e determinar valores normais para gestantes. As variáveis estudadas foram: idade materna, idade gestacional, pressão arterial sistólica e diastólica, proteinúria, concentração de hematócrito e hemoglobina, contagem de plaquetas, concentração sérica de bilirrubina total, desidrogenase láctica (DHL), transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), ureia, creatinina e ácido úrico, além da concentração

plasmática de haptoglobina. Os resultados foram analisados por testes não paramétricos, com nível de significância de 5%.

Resultados: Os valores de ureia, ácido úrico, TGO, TGP e DHL foram significativamente maiores, enquanto o número de plaquetas foi estatisticamente menor nas gestantes com síndrome HELLP/HELLP parcial em comparação às gestantes com PE leve e PE grave. Os níveis de creatinina nas gestantes com síndrome HELLP/HELLP parcial foram significativamente maiores somente em relação às portadoras de PE leve. Não houve diferença estatística em relação ao hematócrito e hemoglobina. A comparação entre os valores de haptoglobina e de bilirrubina, como parâmetros do diagnóstico de hemólise mostrou que 61,5% das gestantes com síndrome HELLP/HELLP parcial apresentaram concentração plasmática de haptoglobina reduzida, enquanto em apenas 15,4% dessas gestantes os valores de bilirrubina estavam aumentados.

Conclusão: Os resultados mostram maior eficácia da haptoglobina em relação à bilirrubina como parâmetro do diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP.

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

ABSTRACT

Introduction: The HELLP syndrome is a severe complication of pregnant women with preeclampsia (PE), characterized by association of hemolysis, changes in liver enzymes and thrombocytopenia. Hemolysis, defined by the presence of microangiopathic hemolytic anemia, is one of the characteristics in this syndrome. However, as hemolysis occurs in a short time there is some difficulty in its laboratory diagnosis. Therefore, the search for a more sensitive and specific method for hemolysis determination may help in the early diagnosis of the HELLP syndrome.

Objectives: a) To determine the plasma concentration of haptoglobin in normotensive pregnant women and in pregnant women with PE, classified into mild PE, severe PE and HELLP/partial HELLP syndrome; b) To compare the efficacy of haptoglobin plasma concentration and serum total bilirubin as criteria for hemolysis diagnosis in HELLP/partial HELLP syndrome.

Methods: We conducted a cross-sectional analytical and comparative study involving 66 pregnant women diagnosed with PE, being 25 cases with mild PE, 28 with severe PE, and 13 with HELLP/partial HELLP syndrome. Twenty-one normotensive pregnant women were included for comparison of haptoglobin plasma concentration between the groups and to determine the normal values for pregnant women. The variables studied were: maternal age, gestational age, systolic and diastolic blood pressure, proteinuria, hematocrit and hemoglobin values, platelet count, serum total bilirubin, lactate dehydrogenase (LDH), glutamic oxaloacetic transaminase (AST) and glutamic-pyruvic transaminase (ALT), urea, creatinine and uric acid, and also plasma concentrations of

haptoglobin. The results were analyzed by nonparametric tests, with a significance level of 5%.

Results: The values of urea, uric acid, AST, ALT and LDH were significantly higher, while the number of platelets was lower in pregnant women with HELLP/partial HELLP syndrome compared to pregnant women with mild PE and severe PE. Creatinine levels in pregnant women with HELLP/partial HELLP syndrome were significantly higher only in relation to women with mild PE. There was no statistical difference in relation to hematocrit and hemoglobin values. The comparison between haptoglobin and bilirubin concentrations, employed as parameters of hemolysis diagnosis demonstrated that 61.5% of the patients with HELLP/partial HELLP syndrome showed reduced plasma concentration of haptoglobin, compared with only 15.4% of these patients with increased values of bilirubin.

Conclusion: The results show the greater efficacy of haptoglobin compared to bilirubin as a parameter of the hemolysis diagnosis in HELLP syndrome.

Keywords: Haptoglobin; Hemolysis, Preeclampsia, HELLP syndrome.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO	18
3. SUJEITOS E MÉTODOS	18
3.1. Pacientes	18
3.2. Variáveis	19
3.3. Colheita de sangue das gestantes	19
3.4. Dosagens bioquímicas e hematológicas	20
3.5. Dosagem de haptoglobina	20
3.6. Análise Estatística	21
4. RESULTADOS.....	22
4.1. Características dos grupos estudados	22
4.2. Variáveis bioquímicas e hematológicas.....	23
4.3. Concentração de haptoglobina	25
4.4. Concentração de bilirrubina total.....	26
5. DISCUSSÃO.....	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
6. ANEXO I	39

1. INTRODUÇÃO

A pré-eclâmpsia (PE) é uma síndrome específica da gravidez que incide entre 2% e 8% das gestações (Duley, 2009; Ghulmiyyah & Sibai, 2012; Vikse et al., 2013). Trata-se de uma das principais causas de morbidade e mortalidade materna em todo o mundo, sendo responsável por mais de 50 mil mortes por ano, principalmente nos países em desenvolvimento (Duley, 1992). Além disso, a mortalidade perinatal nesses países é elevada, havendo associação de um quarto de natimortos e neomortos com casos de PE e eclâmpsia (Roberts et al., 2005; Ngoc et al., 2006).

É uma doença caracterizada por um estado de inflamação sistêmica mais acentuada do que na gestação normal, que determina múltiplas alterações no organismo materno (Redman & Sargent, 2005; Ghulmiyyah & Sibai, 2012). Suas manifestações clínicas aparecem após a 20ª semana de gestação e são definidas por hipertensão arterial associada à proteinúria em gestante previamente normotensa (NT) (Paternoster et al., 2004; Milne et al., 2005; Sibai, 2008).

A PE é classificada em leve e grave, de acordo com parâmetros clínicos e laboratoriais (ACOG, 2002) e pode evoluir para complicações graves como a eclâmpsia e a síndrome HELLP. A doença tem caráter progressivo e variável, podendo avançar de um estado leve para um grave de forma repentina (Turner, 2010).

Antes de 1982 a literatura já descrevia, entre os dados laboratoriais de mulheres portadoras de PE, alterações compatíveis com as existentes na síndrome HELLP e esses achados já identificavam a gravidade dos casos. Assim, Louis Weinstein (1982) reuniu essas alterações em relato de 29

pacientes sob o acrônimo de HELLP, definindo esta pela presença de hemólise (H = hemolysis), concentração elevada de enzimas hepáticas (EL = elevated liver enzymes) e contagem baixa de plaquetas ou trombocitopenia (LP = low platelets count).

Atualmente, sabe-se que a síndrome HELLP ocorre entre 0,2% e 0,8% de todas as gestações (Albildgaard & Heimdal, 2013) e acomete de 10% a 20% das pacientes com PE grave (Karumanchi et al., 2005; Sak et al., 2013). Portanto, essa síndrome pode ser considerada uma forma grave de PE, que se manifesta em estágios finais da gestação ou até 48h após o parto, com complicações desfavoráveis para a mãe e o feto (Sibai, 2004; Albildgaard & Heimdal, 2013; Sak et al., 2013).

Em estudo de coorte retrospectivo, composto por 442 gestações complicadas pela síndrome HELLP, a mortalidade materna encontrada foi de 1,1% (Sibai et al., 1993). No entanto, a mortalidade perinatal é consideravelmente maior, entre 7,4% e 20,4%, e diretamente dependente da idade gestacional em que a síndrome se manifesta (Sibai, 2004). Os recém-nascidos com menos de 32 semanas tem maior risco de óbito perinatal (Aslan et al., 2004). Assim, a conduta obstétrica em pacientes com idade gestacional acima de 34 semanas é a resolução da gestação (Sibai, 2004), uma vez que esta é ainda a única terapia específica para a síndrome HELLP (Sak et al., 2013).

Assim como na PE, a etiologia da síndrome HELLP permanece desconhecida. Porém, a placentação inadequada, decorrente da incompleta invasão trofoblástica das arteríolas espiraladas, desempenha papel central na fisiopatologia dessas doenças (Albildgaard & Heimdal, 2013; Sak et al., 2013). Portanto, ambas estão associadas à lesão endotelial, deposição de fibrina no

lúmen dos vasos e aumento da ativação e consumo plaquetário. Essa ativação resulta na liberação de substâncias vasoconstritoras como tromboxano A_2 e serotonina. Além disso, a agregação plaquetária lesa o endotélio e prejudica a produção de prostaciclina, um potente vasodilatador (Rath et al., 2000; Baxter & Weinstein, 2004).

Na PE grave e na síndrome HELLP ocorre ativação endotelial sistêmica, com consequente comprometimento de vários órgãos. Entretanto, a resposta inflamatória sistêmica é mais acentuada na síndrome HELLP do que na PE (Landi & Tranquilli, 2008), podendo a coagulação intravascular disseminada fulminante se desenvolver agudamente na síndrome HELLP (Catanzarite et al., 1997). A resposta inflamatória com ativação dos sistemas de coagulação e do complemento é causada por partículas do sinciciotrofoblasto e outros produtos placentários, que interagem com as células imunes maternas e endoteliais vasculares (Gardiner et al., 2011; van der Post et al., 2011). Esses eventos determinam maiores concentrações de proteína C-reativa e de citocinas inflamatórias na síndrome HELLP do que na PE (Visser et al., 1994; van Runnard Heimel et al., 2008). Além disso, o defeito na regulação do sistema complemento pode contribuir para o desenvolvimento de microangiopatia trombótica e síndrome HELLP (Fang et al., 2008).

A hemólise, definida pela presença de anemia hemolítica microangiopática, é a principal característica da síndrome HELLP (Barton & Sibai, 2004). A fragmentação dos eritrócitos ocorre secundariamente à passagem dessas células pelos pequenos vasos com a camada íntima lesada e com deposição de fibrina (Baxter & Weinstein, 2004; Haram et al., 2009). A definição clássica de hemólise microangiopática inclui elevação dos níveis séricos de bilirrubina, elevação da enzima desidrogenase láctica (DHL), queda

significativa dos níveis de hemoglobina, presença de esquizócitos em esfregaço de sangue periférico e diminuição dos níveis séricos de haptoglobina (Sibai, 2004).

A lesão hepática associada à síndrome HELLP se deve à necrose do parênquima periportal, na qual se encontram depósitos hialinos *fibrina-like*. Deste modo, a obstrução dos sinusóides hepáticos pela fibrina causa lesão hepatocelular, que se manifesta pela elevação das enzimas hepáticas e pela dor no hipocôndrio direito (Baxter & Weinstein, 2004). No entanto, não há consenso na literatura se os testes de função hepática devem ser utilizados e que valores são considerados elevados (Sibai, 1990). Rath et al. (2000) definem como concentração anormal das enzimas hepáticas, transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) e/ou da transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) o valor de três desvios-padrão acima de média associado ao aumento de DHL.

A trombocitopenia é um evento secundário, por ser causada pelo aumento da taxa de consumo de plaquetas nos locais em que o endotélio vascular encontra-se lesado (Baxter & Weinstein, 2004; Haram et al., 2009). A síndrome HELLP é identificada quando o número de plaquetas no sangue é inferior a $100.000/\text{mm}^3$. A diminuição de plaquetas abaixo de $150.000/\text{mm}^3$ é considerada como um fator de risco para a síndrome, apesar de esse valor ser encontrado em 4% a 8% de gravidezes sem complicações (Rath et al., 2000).

Atualmente, há duas principais definições diagnósticas para a síndrome HELLP, o sistema de classificação do Tennessee (Sibai, 2004) e o sistema de classificação do Mississippi (Martin et al., 2006). O mais utilizado é o do Tennessee (Abildgaard et al., 2013), proposto por Audibert et al. (1996), em que a anemia microangiopática é diagnosticada por esfregaço de sangue periférico anormal, níveis elevados de bilirrubina ($\geq 1,2 \text{ mg}/100\text{mL}$) e níveis

elevados de DHL. A lesão hepática é definida pelos níveis elevados de TGO (≥ 70 UI/L) e de DHL (> 600 UI/L) e a trombocitopenia pela contagem de plaquetas $< 100.000/\text{mm}^3$.

Entretanto, os critérios diagnósticos utilizados para definir a síndrome HELLP são variáveis e inconsistentes. Há divergência na literatura em relação à terminologia, incidência, diagnóstico e conduta obstétrica a ser seguida (Sibai, 2004). Em uma revisão sobre mortalidade materna associada à síndrome HELLP observou-se atraso no diagnóstico em 51% dos casos (Isler et al., 1999). Portanto, o diagnóstico precoce e correto é essencial para o devido controle da síndrome (Abildgaard et al., 2013).

Em meio a este contexto, ainda que a hemólise seja considerada a principal característica da síndrome HELLP (Barton & Sibai, 2004), um grande percentual de relatos publicados incluem pacientes sem registro de hemólise, que podem se encaixar nos critérios da síndrome HELLP incompleta (ELLP) (Barton & Sibai, 2004; Haram et al., 2009). Assim, o uso de diferentes definições dificulta a comparação dos dados publicados (Sibai, 2004).

Portanto, ainda existe dificuldade para a detecção da hemólise, uma vez que esta ocorre em curto espaço de tempo, sendo difícil constatá-la no diagnóstico laboratorial (Rath et al., 2000). Em relação à identificação de esquizócitos, não existe padronização, pois os trabalhos apenas referem-se à sua presença (Barton & Sibai, 2004), não sendo um procedimento de rotina na maioria dos serviços. Nascimento e Silva et al. (2008) observaram a presença dessas estruturas em apenas 31,6% das gestantes portadoras de PE.

A determinação de DHL total não é um parâmetro específico para a hemólise, pois reflete também a disfunção hepática. Do mesmo modo, a elevação dos níveis séricos de bilirrubina também não é considerada confiável,

uma vez que pode ser encontrada em apenas 47% a 62% dessas pacientes e ser um sinal tardio da doença, geralmente com hemólise grave (Rath et al., 2000). Logo, o método mais sensível e específico para detecção da hemólise é a determinação dos níveis séricos de haptoglobina (Rath et al., 2000; Haram et al., 2009), que encontra-se significativamente diminuída em 85% a 97% dos casos de gestantes acometidas pela síndrome HELLP (Rath et al., 2000).

A haptoglobina é uma proteína de fase aguda, produzida principalmente pelos hepatócitos e secretada na circulação sanguínea (Zhao et al., 2009). Possui uma meia vida curta de aproximadamente cinco dias, mas havendo liberação de hemoglobina livre, proveniente de hemólise intravascular, a haptoglobina se liga quase irreversivelmente à hemoglobina (Arderesen et al., 2012), formando os complexos haptoglobina-hemoglobina (Hp-Hb). Esses complexos são rapidamente retirados da circulação por macrófagos do fígado e do baço, que expressam níveis elevados do receptor *scavenger* para Hp-Hb, denominado CD163 (Schaer et al., 2007). Esse fenômeno resulta, consequentemente, em diminuição dos níveis séricos de haptoglobina (Gupta et al., 2011) e explica a menor concentração dessa proteína em pacientes com hemólise acelerada (Madsen et al., 2001). Além disso, a formação do complexo Hp-Hb previne a liberação do ferro-heme, impedindo assim sua ação pró-oxidante e citotóxica (Zhao et al., 2009) sobre os rins e vasos (Raijmakers et al., 2003).

Neste contexto, alguns trabalhos já demonstraram a redução dos níveis de haptoglobina em casos de pacientes com síndrome HELLP (Wilke et al., 1992; Curtin & Weinstein, 1999). Além disso, o rápido decréscimo nos níveis séricos de haptoglobina correlaciona-se significativamente com a gravidade clínica da doença (Rath et al., 2000). Portanto, considerando que ainda há

dificuldade na avaliação da hemólise para o diagnóstico da síndrome HELLP, a determinação da haptoglobina sérica pode ser um marcador mais sensível e objetivo, auxiliando no diagnóstico precoce, com a finalidade de reduzir a mortalidade materna e perinatal.

2. OBJETIVOS

2.1. Determinar a concentração plasmática de haptoglobina em gestantes normais e portadoras de pré-eclâmpsia, classificadas em PE leve, PE grave e com diagnóstico de síndrome HELLP/HELLP parcial.

2.1. Comparar a eficácia entre a concentração plasmática de haptoglobina e de bilirrubina total, como parâmetros do diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP/HELLP parcial.

3. SUJEITOS E MÉTODOS

3.1. Pacientes

Foi realizado estudo transversal, analítico e comparativo envolvendo 66 gestantes com diagnóstico de PE, sendo 25 casos de PE leve, 28 de PE grave e 13 com síndrome HELLP parcial ou síndrome HELLP. Foram incluídas 21 gestantes normotensas, para comparação da concentração plasmática da haptoglobina entre os grupos e determinar valores normais para gestantes. Todas as gestantes receberam assistência na Maternidade do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP. No presente estudo as gestantes com diagnóstico de síndrome HELLP foram excluídas do grupo de gestantes com PE grave. Os critérios estabelecidos para o diagnóstico da síndrome HELLP foram os propostos por Sibai (1990) e Audibert et al. (1996),

sendo padronizados pelo Ministério da Saúde, Brasil (2000). A síndrome HELLP parcial foi considerada quando a tríade conceitual da síndrome HELLP não estava completa (Ministério da Saúde, Brasil 2000).

Todas as gestantes envolvidas no estudo foram previamente informadas quanto à finalidade da pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, protocolo CEP 4230-2012 (Anexo 1).

3.2. Variáveis

Para todas as gestantes com PE foram obtidas as seguintes variáveis: idade materna (anos); idade gestacional (semanas); pressão arterial sistólica e diastólica (mmHg); proteinúria (leve: < 2g/24h e grave: ≥ 2g/24h); concentração de hemoglobina (g/dL) e de hematócrito (%); concentração de bilirrubina sérica total (mg/dL); concentração sérica de desidrogenase láctica (UI/L); contagem de plaquetas (número/mm³); concentração sérica de ureia (mg/dL); concentração sérica de creatinina (mg/dL); concentração sérica de ácido úrico (mg/dL); concentração sérica de transaminase glutâmico-oxalacética (UI/L) e transaminase glutâmico-pirúvica (UI/L); concentração plasmática de haptoglobina (ug/mL).

3.3. Colheita de sangue das gestantes

No momento do diagnóstico da pré-eclâmpsia foram colhidos 8 mL de sangue por punção venosa para a determinação das variáveis bioquímicas e hematológicas. Todas as dosagens bioquímicas e hematológicas foram

realizadas no Laboratório Clínico do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, SP, UNESP.

3.4. Dosagens hematológicas e bioquímicas

As dosagens de hemoglobina, hematócrito e a contagem de plaquetas foram determinadas utilizando o contador automático Pentra 120 Retic, da ABX-Horiba. As dosagens séricas de bilirrubina total, desidrogenase láctica, transaminases glutâmico-oxalacética e glutâmico-pirúvica, ureia, creatinina e ácido úrico foram determinadas pelo método de química seca, no equipamento Vitros® da Johnson & Johnson. A proteinúria de 24 horas foi quantificada pelo método de reação colorimétrica vermelho de Pirogalol, no equipamento Vitros® da Johnson & Johnson.

3.5. Dosagem de haptoglobina

A concentração de haptoglobina foi determinada por ensaio imunoenzimático (ELISA), utilizando o *AssayMax human Haptoglobin ELISA kit* (AssayPro, St Charles, MO, USA). A reação foi desenvolvida segundo as instruções do fabricante e descrita conforme técnica abaixo.

O ensaio quantifica haptoglobina humana em plasma ou soro por imunoensaio enzimático competitivo. Placas de 96 poços e fundo plano (MaxiSorp-Nunc Life Tech. Inc., Maryland, MA, USA) foram sensibilizadas com anticorpo policlonal específico para haptoglobina humana. Inicialmente foram adicionados 25 uL de cada amostra de soro das gestantes NT ou de portadoras de PE juntamente com 25 uL de haptoglobina biotinilada, ocorrendo assim, competição entre a haptoglobina presente na amostra e a haptoglobina biotinilada padrão pela ligação ao anticorpo policlonal aderido na placa. A placa

foi incubada à temperatura ambiente por 60 min e, em seguida os poços foram lavados cinco vezes com 200 uL do tampão de lavagem. Em seguida foram adicionados 50 uL do conjugado estreptavidina-peroxidase e a placa foi incubada à temperatura ambiente por 30 min. Após novo ciclo de lavagens (cinco vezes) com 200 uL de tampão de lavagem, foram adicionados 50 uL de cromógeno e a placa foi incubada por 7 min à temperatura ambiente. Essa reação revelou a haptoglobina biotinilada ligada ao conjugado estreptavidina-peroxidase e ao anticorpo policlonal aderido à placa. A reação foi bloqueada pela adição de 50 uL de ácido clorídrico 0,5 N. A leitura da placa foi realizada em leitor de ELISA (Multiskan EFLAB, Helsinki, Finland) com comprimento de onda de 450 nm. A concentração de haptoglobina, presente no plasma, foi calculada a partir de curva-padrão realizada com padrão de haptoglobina humana. O limite de sensibilidade do kit foi de 0,07 ug/mL.

3.6. Análise estatística

Os resultados obtidos a partir das dosagens bioquímicas, hematológicas e de haptoglobina foram analisados empregando-se análise de variância não paramétrica (teste de Kruskal-Wallis). Para todas as análises foi utilizado o programa estatístico INSTAT 3.05 (GraphPad San Diego, CA USA), com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

4.1. Características dos grupos estudados

As características clínicas das gestantes NT e das portadoras de PE, estratificadas em síndrome HELLP/HELLP parcial, PE grave e PE leve encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Características das gestantes normotensas e portadoras de pré-eclâmpsia.

Parâmetros	NT n = 21	HELLP/HELLP parcial n = 13	PE grave n = 28	PE leve n = 25
Idade (anos)	22,5 (16 – 31)	24,5 (14 – 38)	26,5 (13 – 43)	28,5 (17 – 43)
Idade gestacional (semanas)	34 (21 – 40)	30 (23 – 37)	33 (26 – 39)	37,5 * (28 – 40)
PA sistólica (mmHg)	105 (95 – 110)	160 ** (140 – 230)	160 ** (140 – 210)	150 ** (140 – 160)
PA diastólica (mmHg)	65 (60 – 70)	110 ** (95 – 130)	100 ** (90 – 120)	97,5 ** (90 – 110)
Proteinúria (mg/24h)	< 300	3.730 # (1.010 – 13.100)	650 (300 – 16.500)	380 (240 – 2.080)

Resultados expressos em mediana (valores mínimo e máximo entre parênteses)

* (p<0,05) vs NT, HELLP e PE grave; ** (p<0,001) vs NT; # (p<0,01) vs PE grave e PE leve - Teste de Kruskal-Wallis.

Não houve diferença estatística entre os grupos estudados em relação à idade materna. A idade gestacional foi significativamente maior no grupo PE leve, quando comparado com os outros grupos. Os valores da pressão arterial sistólica e diastólica foram significativamente maiores ($p<0,001$) nos três grupos de gestantes portadoras de PE em relação às gestantes NT. O valor da proteinúria foi significativamente maior ($p<0,001$) no grupo de gestantes com síndrome HELLP/HELLP parcial em comparação aos demais grupos. Não houve diferença estatística entre as gestantes com PE leve e PE grave em relação aos valores de proteinúria.

4.2. Variáveis bioquímicas e hematológicas

As variáveis bioquímicas e hematológicas estão apresentadas na Tabela 2. Os níveis de ureia e ácido úrico foram significativamente maiores ($p<0,05$) nas gestantes com diagnóstico de síndrome HELLP/HELLP parcial em comparação às portadoras de PE grave e leve. Quanto aos níveis de TGO, TGP, DHL e número de plaquetas também observou-se diferença estatística ($p<0,001$) no grupo de gestantes portadoras de síndrome HELLP/HELLP parcial em comparação às portadoras de PE leve e PE grave. No entanto, quanto à dosagem de creatinina, os níveis das gestantes com síndrome HELLP/HELLP parcial foram significativamente maiores ($p<0,05$) somente em relação às portadoras de PE leve. Em relação à dosagem de bilirrubina observou-se diferença estatística ($p<0,01$) somente entre gestantes com síndrome HELLP/HELLP parcial e gestantes portadoras de PE grave. Não houve diferença estatística em relação aos valores de hematócrito e hemoglobina.

Tabela 2. Variáveis bioquímicas e hematológicas em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia.

Parâmetros	HELLP/HELLP parcial n = 13	PE grave n = 28	PE leve n = 25
Ureia (mg/dL)	32 * (4,2 – 54)	17 (10 – 58)	17 (7 – 25)
Creatinina (mg/dL)	0,75 ** (0,6 – 1)	0,6 (0,4 – 1,7)	0,6 (0,4 – 0,9)
Ácido úrico (mg/dL)	6,0 * (5,4 – 10,3)	5 (0,4 – 10,8)	4,85 (2,9 – 7,1)
TGO (UI/L)	138,5 @ (41 – 1.338)	24,5 (8 – 37)	20 (8 – 72)
TGP (UI/L)	125,5 @ (15 – 556)	20 (3 – 32)	19 (8 – 52)
Bilirrubina (mg/dL)	0,6 # (0,2 – 2,5)	0,3 (0,1 – 1,1)	0,4 (0,1 – 1)
DHL (UI/L)	1.459 @ (1.092 – 10.003)	549 (321 – 870)	531 (355 – 674)
Plaquetas (número/mm ³)	99.500 @ (31 – 150)	233.000 (134 – 346)	222.500 (135 – 412)
Hematócrito (%)	33,05 (26 – 43,1)	36,2 (27,8 – 41,7)	37,8 (33,1 – 45,2)
Hemoglobina (g/dL)	10,95 (8,2 – 14,9)	12,3 (7,9 – 13,5)	12,7 (10,8 – 14,6)

Resultados expressos em mediana (valores mínimo e máximo entre parênteses)

* (p<0,05) vs PE grave e PE leve; ** (p<0,05) vs PE leve; @ (p<0,001) vs PE grave e PE leve; # (p<0,01) vs PE grave - Teste de Kruskal-Wallis

4.3. Concentração de haptoglobina

A concentração de haptoglobina foi determinada no plasma de gestantes portadoras de síndrome HELLP/HELLP parcial, PE leve, PE grave e de gestantes NT. Os valores da mediana com a concentração mínima e máxima (entre parênteses) foram 250,6 ug/mL (6,4 – 368) para gestantes com diagnóstico de síndrome HELLP/HELLP parcial; 372,8 ug/mL (216,0 – 89,4) para gestantes com PE leve; 365,4 ug/mL (68,4 – 410,2) para gestantes com PE grave e, 364,2 ug/mL (327,6 – 389,2) para gestantes NT.

A comparação dos valores de haptoglobina entre gestantes com síndrome HELLP e síndrome HELLP parcial mostrou mediana de 61,5 ug/mL em gestantes com síndrome HELLP e de 319,6 ug/mL nas gestantes com síndrome HELLP parcial.

Para avaliar se existe alteração nos valores de haptoglobina nos grupos de gestantes portadoras de PE, determinamos a média $\pm$ SD dos valores de haptoglobina em gestantes NT ($363,9 \pm 19,2$). Valores menores que a média menos 2 SD (325,5) foram considerados abaixo da normalidade. A concentração da haptoglobina foi significativamente menor ($p < 0,05$) nas gestantes com síndrome HELLP/HELLP parcial em comparação aos valores detectados em gestantes com PE leve, PE grave e NT (Figura 1).

Na Figura 1 pode-se observar que 61,5% (8 de 13) gestantes com diagnóstico de síndrome HELLP/HELLP parcial, 12% (3 de 25) das gestantes com PE leve e 7,1% (2 de 28) com PE grave apresentaram valores de haptoglobina menores que a média $\pm 2SD$ dos valores das gestantes NT.

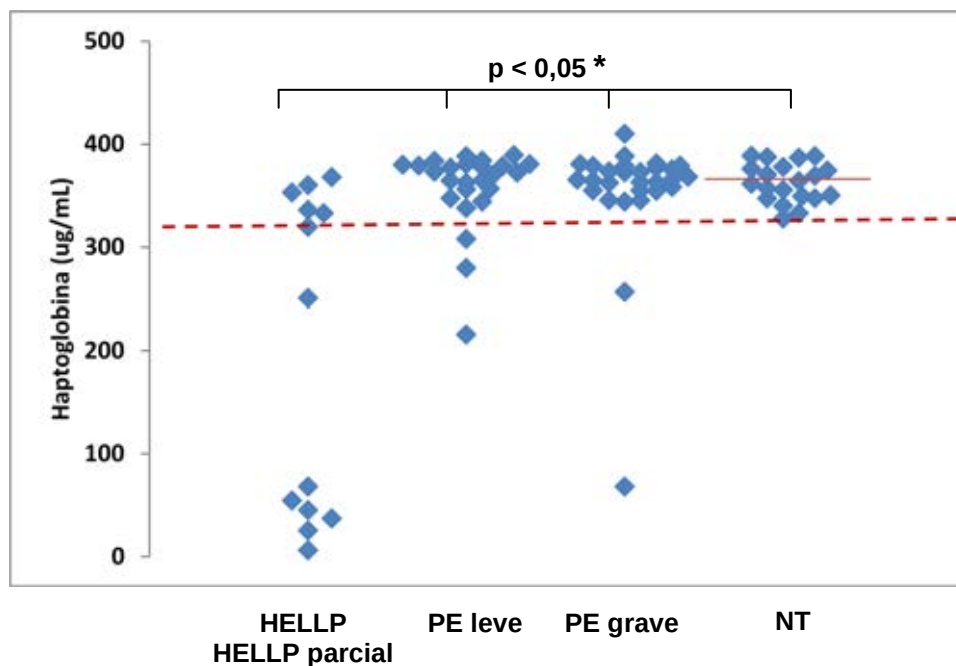


Figura 1. Concentração plasmática de haptoglobina em gestantes portadoras de síndrome HELLP/HELLP parcial (n=13), PE leve (n=25), PE grave (n=28) e gestantes NT (n=21). As linhas horizontais representam a média (linha contínua) menos 2 SD (linha tracejada) dos valores de haptoglobina em gestantes NT. * ($p < 0,05$) síndrome HELLP/HELLP parcial vs PE leve, PE grave e NT (teste de Kruskal-Wallis).

4.4. Concentração de bilirrubina total

Na Figura 2 estão representados os valores de bilirrubina total detectados no soro de gestantes com síndrome HELLP/HELLP parcial, PE leve e PE grave. A linha horizontal no gráfico representa o valor limite inferior para o diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP (1,2 mg/dL). Observa-se que 15,4% (2 de 13) das gestantes com diagnóstico de síndrome HELLP/HELLP parcial apresentam valores de bilirrubina aumentados. Nas gestantes com PE leve e PE grave esses resultados encontram-se dentro da normalidade.

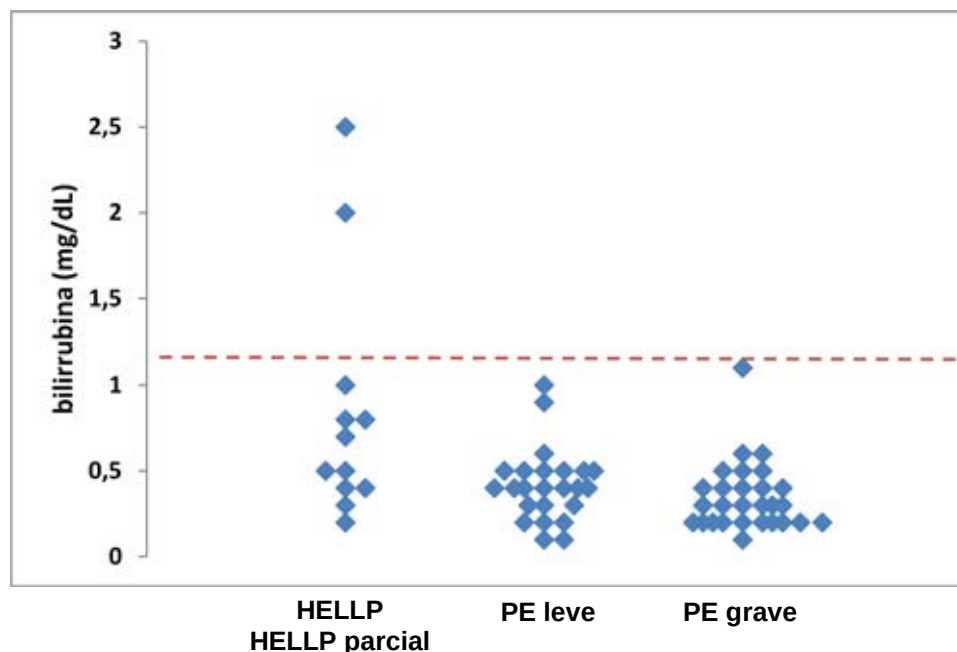


Figura 2. Concentração sérica de bilirrubina total em gestantes portadoras de síndrome HELLP/HELLP parcial (n=13), PE leve (n=25) e PE grave (n=28). A linha horizontal tracejada representa o valor limite inferior para o diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP.

Comparando-se a concentração plasmática de haptoglobina e a concentração sérica de bilirrubina total, como parâmetros do diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP, observa-se que 61,5% das gestantes com diagnóstico de síndrome HELLP/HELLP parcial apresentam diminuição dos valores de haptoglobina, enquanto apenas 15,4% dessas pacientes apresentam resultados elevados de bilirrubina. Não se observou correlação entre os valores de haptoglobina e bilirrubina ($r = -0,02812$; $p = 0,9388$).

Embora o tamanho da amostra seja pequeno, esses resultados mostram melhor eficácia da haptoglobina como parâmetro do diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP.

5. DISCUSSÃO

A síndrome HELLP, caracterizada por hemólise, aumento de enzimas hepáticas e trombocitopenia, é uma complicação grave que ocorre em gestantes que desenvolveram hipertensão induzida pela gestação ou pela PE, estando associada ao aumento da morbimortalidade materna e perinatal. Algumas gestantes desenvolvem apenas uma ou duas das características dessa síndrome, sendo portadoras de um quadro clínico laboratorial denominado de síndrome HELLP parcial (Sibai, 1990; Abbade et al., 2002). Segundo Martin et al. (1991), a síndrome HELLP parcial pode ser a fase inicial das manifestações clínico-laboratoriais da síndrome HELLP, uma vez que esta é insidiosa e progressiva, pois as alterações laboratoriais e a progressão da doença ocorrem em intervalos de tempos variados na síndrome HELLP.

O componente hemolítico, um dos parâmetros da definição de síndrome HELLP, é difícil de ser identificado, sendo definido pelo aumento da bilirrubina sérica total - principalmente da bilirrubina sérica indireta, pela presença de esquizócitos em esfregaço de sangue periférico e pela detecção de altas concentrações da enzima desidrogenase láctica (DHL), presente em altas concentrações no interior das hemácias. A concentração sérica da bilirrubina indireta e de DHL aumentam devido à hemólise intravascular (Sibai, 1990). Entretanto, a DHL não é um parâmetro específico para hemólise, pois também identifica a insuficiência hepática (Rath et al., 2000).

A hemoglobina é um parâmetro difícil de ser valorizado, quando analisada isoladamente, uma vez que as gestantes podem apresentar certo grau de anemia, que não corresponde à anemia microangiopática, própria da PE.

A presença de esquizócitos em esfregaço de sangue periférico é considerada apenas um marcador qualitativo de hemólise (Barton & Sibai, 2004), não se encontrando na literatura trabalhos que definem a hemólise pelo número de células. Em gestantes portadoras de PE, Nascimento e Silva et al. (2008) detectaram a presença de esquizócitos em apenas 31,6% dos casos, sendo que na maioria (75%) dos esfregaços de sangue havia apenas 3 ou 4 esquizócitos por 1000 hemácias analisadas.

O presente estudo teve por objetivo determinar a concentração plasmática de haptoglobina em gestantes NT e portadoras de PE, classificadas em PE leve, PE grave e com diagnóstico de síndrome HELLP/HELLP parcial. Além disso, os valores de haptoglobina e de bilirrubina foram determinados nas gestantes com PE com a finalidade de comparar a eficácia dos dois parâmetros laboratoriais no diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP.

Variáveis bioquímicas e hematológicas foram comparadas entre os grupos de gestantes com PE. Os níveis de TGO, TGP, DHL foram significativamente maiores ($p < 0,001$). Enquanto o número de plaquetas foi estatisticamente menor nas gestantes com síndrome HELLP/HELLP parcial em comparação com as gestantes com PE leve e PE grave, mostrando-se um parâmetro importante para discriminar essas pacientes dos grupos com PE leve e PE grave.

A contagem do número de plaquetas abaixo de $100.000/\text{mm}^3$ é considerada um dos critérios do diagnóstico de síndrome HELLP (Sibai, 1990; Audibert et al., 1996; Ministério da Saúde, Brasil, 2000). No presente trabalho, em que no mesmo grupo foram avaliadas gestantes com síndrome HELLP e síndrome HELLP parcial, a mediana do número de plaquetas foi de 99.500 plaquetas/ mm^3 , refletindo os casos de síndrome HELLP parcial que não

apresentavam trombocitopenia. A mediana do número de plaquetas dos casos com síndrome HELLP foi de 66.500 plaquetas/mm³, enquanto nos casos de HELLP parcial foi de 142.500 plaquetas/mm³. A trombocitopenia ocorre devido ao consumo elevado de plaquetas, decorrente da agregação ou destruição das mesmas (Redman et al., 1978) e da sua adesão à parede dos vasos com lesão endotelial (Pritchard et al., 1976; Baker & Cunningham, 1999). O consumo de plaquetas foi demonstrado pelo aumento de trombopoetina em gestantes com síndrome HELLP (Frolich et al., 1998). Além disso, o vasoespasmo determina alteração da estrutura das plaquetas, que liberam aminas vasoconstritoras, aumentando a vasoconstrição e sua destruição (Magann & Martin Jr, 1999).

A concentração de haptoglobina plasmática foi significativamente menor nas gestantes com síndrome HELLP/HELLP parcial em relação aos valores detectados em gestantes com PE leve, PE grave e NT. Entre as gestantes com síndrome HELLP e síndrome HELLP parcial, estes valores foram menores nas gestantes com síndrome HELLP. Esses resultados concordam com a literatura (Wilke et al., 1992; Rath et al., 2000; Olsson et al., 2010) que também relata concentração de haptoglobina significativamente diminuída em mulheres com síndrome HELLP.

Com relação à dosagem de bilirrubina, observou-se diferença estatística ($p < 0,01$) apenas entre gestantes com diagnóstico de síndrome HELLP/HELLP parcial e com PE leve. A comparação entre os valores de haptoglobina e de bilirrubina como parâmetros do diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP mostrou que, 61,5% das gestantes com diagnóstico de síndrome HELLP/HELLP parcial apresentaram concentração plasmática reduzida de haptoglobina, enquanto em apenas 15,4% dessas pacientes os valores de bilirrubina estavam elevados. Wilke et al. (1992) avaliaram variáveis de

hemólise em 25 gestantes com diagnóstico de síndrome HELLP e encontraram valores reduzidos de haptoglobina em 100% das gestantes, enquanto níveis elevados de bilirrubina foram detectados em apenas 20% das mesmas. Os autores sugeriram que a haptoglobina pode ser um marcador sensível para a detecção precoce de hemólise na síndrome HELLP e que deve ser incluída como um parâmetro laboratorial para auxiliar no diagnóstico dessa patologia.

Portanto, a haptoglobina, considerada importante parâmetro na identificação geral de hemólise (Gupta et al., 2011), também deve ser utilizada no diagnóstico de hemólise da síndrome HELLP, substituindo a dosagem de bilirrubina total, que se mostra inconsistente como marcador de hemólise nessa doença. Na vivência prática, observa-se que as concentrações de bilirrubina total geralmente não atingem valores considerados marcadores de hemólise da síndrome HELLP ($\geq 1,2$ mg/dL), mesmo nos casos comprovados por outros parâmetros de hemólise. No presente estudo, apenas duas gestantes com síndrome HELLP/HELLP parcial apresentaram valores de bilirrubina maiores do que 1,2 mg/dL. Rath et al. (1990) estudando 50 pacientes com síndrome HELLP, verificaram níveis elevados de DHL em 100% das gestantes, enquanto em apenas 66% dos casos foi observado aumento dos valores da bilirrubina. Portanto, a literatura sugere que a bilirrubina não é um parâmetro laboratorial sensível para o diagnóstico de síndrome HELLP. Embora o número de gestantes estudadas no presente trabalho seja pequeno, esses resultados mostram maior eficácia da haptoglobina em relação à bilirrubina como parâmetro do diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP.

Em conclusão, os resultados do presente estudo sugerem a inclusão da haptoglobina plasmática como parâmetro do diagnóstico de hemólise na síndrome HELLP. Estudos futuros, avaliando a concentração de haptoglobina

em maior número de gestantes com diagnóstico de síndrome HELLP, são necessários para confirmar a eficácia da haptoglobina como marcador precoce de hemólise nessa síndrome.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbade JF, Peraçoli JC, Costa RA, Calderon Ide M, Borges VT, Rudge MV. Partial HELLP Syndrome: maternal and perinatal outcome. *Sao Paulo Med J*. 2002; 120(6): 180-4.

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.

American College of Obstetricians and Gynecologists. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. ACOG Practice Bulletin no. 33. Washington, DC.: ACOG; 2002.

Andersen CB, Torvund-Jensen M, Nielsen MJ, de Oliveira CL, Hersleth HP, Andersen NH, Pedersen JS, Andersen GR, Moestrup SK. Structure of the haptoglobin-haemoglobin complex. *Nature*. 2012; 489(7416): 456-9.

Aslan H, Gul A, Cebeci A. Neonatal outcome in pregnancies after preterm delivery for HELLP syndrome. *Gynecol Obstet Invest*. 2004; 58(2): 96-9.

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.

Baker PN, Cunningham FG. Pre-eclampsia – eclampsia. In: Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG, editors. *Chesley's Hypertensive disorders in pregnancy*. 2nd ed. Stamford, Connecticut: Appleton & Lange; 1999. P. 349-73.

Barton JR, Sibai BM. Diagnosis and management of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *Clin Perinatol*. 2004; 31(4): 807-33, vii.

Baxter JK, Weinstein L. HELLP syndrome: the state of the art. *Obstet Gynecol Surv*. 2004; 59(12): 838-45.

Catanzarite VA, Steinberg SM, Mosley CA, Landers CF, Cousins LM, Schneider JM. Severe preeclampsia with fulminant and extreme elevation of aspartate aminotransferase and lactate dehydrogenase levels: high risk for maternal death. *Am J Perinatol*. 1995; 12(5): 310-3.

Curtin WM, Weinstein L. A review of HELLP syndrome. *J Perinatol*. 1999; 19(2): 138-43.

Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol*. 2009; 33(3): 130-7.

Fang CJ, Richards A, Liszewski MK, Kavanagh D, Atkinson JP. Advances in understanding of pathogenesis of aHUS and HELLP. *Br J Haematol*. 2008; 143(3): 336-48.

Frölich MA, Datta S, Corn SB. Thrombopoietin in normal pregnancy and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1998; 179(1): 100-4.

Gardiner C, Tannetta DS, Simms CA, Harrison P, Redman CW, Sargent IL. Syncytiotrophoblast microvesicles released from pre-eclampsia placentae exhibit increased tissue factor activity. *PLoS One*. 2011; 6(10): e26313

Ghulmiyyah L, Sibai B. Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia. *Semin Perinatol*. 2012; 36(1): 56-9.

Gupta S, Ahern K, Nakhil F, Forte F. Clinical usefulness of haptoglobin levels to evaluate hemolysis in recently transfused patients. *Adv Hematol*. 2011; 2011: 389854.

Haram K, Svendsen E, Abildgaard U. The HELLP syndrome: clinical issues and management. A Review. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2009; 9:8.

Isler CM, Rinehart BK, Terrone DA, Martin RW, Magann EF, Martin JN Jr. Maternal mortality associated with HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 1999; 181(4): 924-8.

Karumanchi SA, Maynard SE, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP. Preeclampsia: a renal perspective. *Kidney Int*. 2005; 67(6): 2101-13.

Landi B, Tranquilli AL. HELLP syndrome and placental inflammatory pathology. *Minerva Ginecol*. 2008; 60(5): 389-98.

Madsen M, Graversen JH, Moestrup SK. Haptoglobin and CD163: captor and receptor gating hemoglobin to macrophage lysosomes. *Redox Rep*. 2001; 6(6): 386-8.

Magann EF, Martin JN Jr. Twelve steps to optimal management of HELLP syndrome. *Clin Obstet Gynecol*. 1999; 42(3): 532-50.

Martin JN Jr, Blake PG, Perry KG Jr, 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.

Martin JN Jr, Rose CH, Briery CM. Understanding and managing HELLP syndrome: the integral role of aggressive glucorticoids for mother and child. *Am J Obstet Gynecol*. 2006; 195(4): 914-34.

Milne F, Redman C, Walker J, Baker P, Bradley J, Cooper C, de Swiet M, Fletcher G, Jokinen M, Murphy D, Nelson-Piercy C, Osgood V, Robson S, Shennan A, Tuffnell A, Twaddle S, Waugh J. The pre-eclampsia community guideline (PRECOG): how to screen for and detect onset of pre-eclampsia in the community. *BMJ*. 2005; 330(7491): 576-80.

Ministério da Saúde, Brasil. Síndrome HELLP. In: *Gestação de alto risco: manual técnico*. 3ª. edição. Brasília: Ministério da Saúde, 2000; 30-2.

Nascimento e Silva Rde F, Ruiz e Resende LS, Cardoso BR, Abbade JF, Peraçoli JC. Ming of the presence of schistocytes in blood smear of preeclamptic pregnant women. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2008; 30(8): 406-12.

Ngoc NT, Merialdi M, Abdel-Aleem H, Carroli G, Purwar M, Zavaleta N, Campódonico L, Ali MM, Hofmeyr GJ, Mathai M, Lincetto O, Villar J. Causes of stillbirths and early neonatal deaths: data from 7993 pregnancies in six developing countries. *Bull World Health Organ*. 2006; 84(9): 699-705.

Olsson MG, Centlow M, Rutardóttir S, Stenfors I, Larsson J, Hosseini-Maaf B, Olsson ML, Hansson SR, Akerström B. Increased levels of cell-free hemoglobin, oxidation markers, and the antioxidative heme scavenger alpha(1)-microglobulin in preeclampsia. *Free Radic Biol Med*. 2010; 48(2): 284-91.

Paternoster DM, Fantinato S, Manganelli F, Nicolini U, Milani M, Girolami A. Recent progress in the therapeutic management of pre-eclampsia. *Expert Opin Pharmacother*. 2004; 5(11): 2233-9.

Pritchard JA, Cunningham FG, Mason RA. Coagulation changes in eclampsia: their frequency and pathogenesis. *Am J Obstet Gynecol*. 1976; 124(8): 855-64.

Raijmakers MT, Roes EM, te Morsche RH, Steegers EA, Peters WH. Haptoglobin and its association with the HELLP syndrome. *J Med Genet*. 2003; 40(3): 214-6.

Rath W, Faridi A, Dudenhausen JW. HELLP syndrome. *J Perinat Med*. 2000; 28(4): 249-60.

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.

Redman CW, Bonnar J, Beilin L. Early platelet consumption in pre-eclampsia. *Br Med J*. 1978; 1(6111): 467-9.

Redman CW; Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*. 2005; 308(5728):1592-4.

Roberts CL, Algert CS, Morris JM, Ford JB, Henderson-Smart DJ. Hypertensive disorders in pregnancy: a population-based study. *Med J Aust*. 2005; 182(7): 332-5.

Sak ME, Deveci E, Turgut A, Sak S, Evsen MS, Gul T, Kalkanli S. Placental expression of vimentin, desmin and ultrastructural changes in the villi in patients with HELLP syndrome. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013; 17(7): 874-8.

Schaer CA, 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.

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.

Sibai BM, Ramadan MK, Usta I, Salama M, Mercer BM, Friedman SA. Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP syndrome). *Am J Obstet Gynecol*. 1993; 169(4): 1000-6.

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.

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.

Turner JA. Diagnosis and management of pre-eclampsia: an update. *Int J Womens Health*. 2010; 2: 327-37.

van der Post JA, Lok CA, Boer K, Sturk A, Sargent IL, Nieuwland R. The functions of microparticles in pre-eclampsia. *Semin Thromb Hemost*. 2011; 37(2): 146-52.

van Runnard Heimel PJ, Kavelaars A, Heijnen CJ, Peters WH, Huisjes AJ, Franx A, Bruinse HW. HELLP syndrome is associated with an increased inflammatory response, which may be inhibited by administration of prednisolone. *Hypertens Pregnancy*. 2008; 27(3): 253-65.

Vikse BE. Pre-eclampsia and the risk of kidney disease. *Lancet*. 2013; pii: S0140-6736(13)60741-2. 10.1016/S0140-6736(13)60741-2.

Visser W, Beckmann I, Bremer HA, Lim HL, Wallenburg HC. Bioactive tumour necrosis factor alpha in pre-eclamptic patients with and without the HELLP syndrome. *Br J Obstet Gynaecol*. 1994; 101(12): 1081-2.

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.

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.

Zhao X, Song S, Sun G, Strong R, Zhang J, Grotta JC, Aronowski J. Neuroprotective role of haptoglobin after intracerebral hemorrhage. *J Neurosci*. 2009; 29(50): 15819-27.

ANEXO I



Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu



Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br
e-mail coordenadoria: tsarden@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde
em 30 de abril de 1997

Botucatu, 07 de maio de 2012

Of. 227/2012

Ilustríssima Senhora
Profª. Titular Maria Terezinha Serrão Peraçoli
Departamento de Microbiologia e Imunologia do
Instituto de Biociências de Botucatu

Prezada Drª. Maria Terezinha,

Informo que o Projeto de Pesquisa (Protocolo CEP 4230-2012) Eficácia da haptoglobina como marcador da hemodiálise no diagnóstico da síndrome HELLP, a ser conduzido por Thais Tiemi Higa, orientada por Vossa Senhoria, com a colaboração do Prof. Titular José Carlos Peraçoli, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião de 07/05/2012.

Situação do Projeto: APROVADO. Os pesquisadores deverão apresentar ao CEP ao final da execução do Projeto o "Relatório Final de Atividades".

Atenciosamente,

Prof. Dr. Trajano Sardenberg
Coordenador do CEP