

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 05/09/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia
Dissertação de Mestrado

THAINÁ OMIA BUENO PEREIRA

AVALIAÇÃO DA AÇÃO FARMACOLÓGICA
DO NEBIVOLOL E SUAS REPERCUSSÕES EM MODELO *IN VITRO*
DE PRÉ-ECLÂMPSIA

Botucatu-SP
2023

THAINÁ OMIA BUENO PEREIRA

**AVALIAÇÃO DA AÇÃO FARMACOLÓGICA DO NEBIVOLOL E SUAS
REPERCUSSÕES EM MODELO *IN VITRO* DE PRÉ-ECLÂMPSIA**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para a obtenção do título de Mestra no Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia.

Orientadora: Prof. Dra. Valéria Cristina Sandrim

Botucatu-SP

2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Pereira, Thainá Omia Bueno.

Avaliação da ação farmacológica do nebivolol e suas repercussões em modelo *in vitro* de pré-eclâmpsia / Thainá Omia Bueno Pereira. - Botucatu, 2023

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

Orientador: Valéria Cristina Sandrim

Capes: 21000000

1. Óxido nítrico. 2. Células Endoteliais. 3. Nebivolol.
4. Pré-eclâmpsia. 5. Resistência ao Cisalhamento.

Palavras-chave: Óxido nítrico; Disfunção endotelial;
Nebivolol; Pré-eclâmpsia ; Shear stress.

FINANCIAMENTO



Bolsista FAPESP/Mestrado

Processos: 2019/06851-9

2021/01945-5

2021/12010-7



Processo CNPq: 308504/2021-6



Processo 88887.647796/2021-00

AGRADECIMENTOS

À Deus que me guiou e me fortaleceu em todos os momentos da minha jornada.

Aos meus pais, Solange e José Carlos, que dedicaram toda a sua vida em cuidar de mim e do meu irmão Caio. Sou eternamente grata por todos os esforços que fizeram e se hoje estou aqui escrevendo minha tese de mestrado foi porque vocês acreditaram em mim e nunca me fizeram desistir. Tenho tanto para agradecer, faltam palavras... então me resumo a dizer que eu amo vocês demais!

Ao meu irmão Caio por ser esse irmão/amigo tão maravilhoso e trazer alegria nos meus momentos de tristeza. Eu e você juntos para todo sempre!

Aos meus avós maternos Valdemar (*in memoriam*) (saudades eternas) e Teresa e aos meus avós paternos José Pereira e Cecília por cuidarem tão bem de mim ao longo da minha vida e por acreditarem no meu sucesso. Obrigada por tudo que semearam para que eu pudesse colher agora.

Ao meu marido Alexandre que me acompanha nessa jornada há quase 5 anos. Obrigada por ser porto seguro, calma, paz, em meio ao caos. Obrigada por toda ajuda, amparo e amor que você tem me dado. Obrigada por me escolher pra ser sua parceira. A vida é muito mais legal junto de você meu amor e a gente só tá começando... Te amo demais!

À Liz por seu a dog caramelo mais maravilhosa desse mundo. Filha, eu te amo demais!

À minha melhor amiga Mariana, por estar comigo em todos os momentos (literalmente). Amiga, que orgulho da nossa amizade e de como ela amadureceu durante todos esses anos. A nossa conexão é muito especial e eu tenho certeza que eu não vou encontrar ninguém como você (nem quero). Obrigada por tudo, sempre. Te amo!

À minha psicóloga Adriana Colar por todo auxílio durante nesses anos. Obrigada por me ajudar nessa grande descoberta de mim mesma.

À minha orientadora Valéria Cristina Sandrim por me acolher e me fazer integrante do seu laboratório. Pela confiança que colocou em mim e em meu trabalho. Obrigada por me impulsionar sempre e me moldar como cientista. Sou eternamente grata pelo nosso encontro.

Ao Departamento de Farmacologia, em especial aos meus amigos de laboratório (Sarah, Priscila, Luis, Gabi, Ju e Carol) por me ajudarem na minha trajetória. A

companhia de vocês deixou tudo mais leve. Também, a todos os professores integrantes do departamento, por todo auxílio e boa convivência.

À FAPESP, pelo auxílio financeiro para a realização deste projeto. Processo 2021/01945-5.

Enfim, a todos que de alguma forma passaram pela minha vida e contribuíram para minha formação pessoal e profissional. Muito obrigada!

EPÍGRAFE

*Slow down, you crazy child
You're so ambitious for a juvenile
But then if you're so smart
Tell me why are you still so afraid?*

*Where's the fire?
What's the hurry about?
You better cool it off before you burn it out
You got so much to do and only so many hours in a day*

(...)

*Slow down, you're doing fine
You can't be everything you wanna be before your time*

Vienna – Billy Joel

PREFÁCIO

É com grande satisfação que apresentamos este estudo, que traz resultados em busca de respostas para um importante desafio médico: a Pré-eclâmpsia (PE). Esta condição obstétrica representa um sério risco à saúde das gestantes e requer esforços contínuos na busca por novas abordagens terapêuticas.

O trabalho está dividido em dois capítulos. O Capítulo 1 aborda o artigo publicado na revista *Cells*, intitulado "*Nebivolol increases nitric oxide synthase via β 3 adrenergic receptor in endothelial cells following exposure to plasma from preeclamptic patients.*" Neste estudo, o foco foi avaliar como o nebivolol pode afetar a produção de óxido nítrico em células endoteliais quando expostas ao plasma de pacientes com PE.

No Capítulo 2, apresentamos um artigo inédito intitulado "*Shear Stress and nebivolol in Preeclampsia: Modulating the NO pathway.*" Neste estudo, o objetivo foi investigar como a tensão de cisalhamento (*shear stress*) e o nebivolol podem influenciar a via do óxido nítrico; produção de espécies reativas de oxigênio (ROS); expressão de moléculas de adesão e a atividade antioxidante.

Este trabalho é um importante passo rumo ao entendimento mais profundo da PE e suas implicações. Esperamos que este estudo contribua para avanços significativos no tratamento e manejo dessa condição, trazendo benefícios concretos para as gestantes.

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

ACOG - American College of Obstetrics and Gynecology, Colégio Americano de Obstetras e Ginecologistas

ADMA - asymmetric dimethylarginine, dimetilarginina assimétrica

BSA - bovine serum albumin, albumina sérica bovina

CD - Cluster of differentiation, grupamento de diferenciação

ECs - endothelial cells, células endoteliais

EDRF - endothelium-derived relaxing factor, fator de relaxamento derivado do endotélio

EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético

eNOS - endothelial nitric oxide synthase, óxido nítrico sintase endotelial

FSI - Fragile states index, índice de estado frágil

GAPDH - Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase

HRP - horseradish peroxidase, peroxidase de rábano

HUVECs - Human umbilical vein endothelial cells, células endoteliais de veia umbilical humana

LDS - Lithium dodecyl sulfate, Dodecil sulfato de lítio

NaCl - cloreto de sódio

NED - N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride, Dicloridrato de N-(1-naftil)-etilenodiamina

NO - nitric oxide, óxido nítrico

NOS - nitric oxide synthase, óxido nítrico sintase

OOBr - Observatório Obstétrico Brasileiro

PBS - phosphate buffered saline, tampão salino tamponado com fosfato

PVDF - polyvinylidene fluoride, fluoreto de polivinilideno

RMM - razão de mortalidade materna

RNS - espécies reativas de nitrogênio

ROS - espécies reativas de oxigênio

TBS - tris-buffered saline, solução salina tris-tamponada

TCEP - (tris(2-carboxyethyl)phosphine), (tris(2-carboxietil)fosfina)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Intensidade de fluorescência medida por DAF	21
Figura 2. Western blots representativos mostrando a fosforilação de eNOS em Ser1177 (top blot), eNOS total (top blot) e GAPDH (bottom blot; controle de carga) em células endoteliais	34
Figure 3. Níveis de nitrito/óxido de nitrato (NOx) em células endoteliais	35
Figure 4. Mediana da intensidade de fluorescência (MIF) do DCFH-DA em células endoteliais	35
Figure 5. Mediana da intensidade de fluorescência (MIF) do anticorpo ICAM-1/CD54 em células endoteliais	36
Figure 6. Mediana da intensidade de fluorescência (MIF) do anticorpo VCAM-1/CD106 células endoteliais	37
Figure 7. Mediana da intensidade de fluorescência (MIF) do anticorpo ENG/CD105 em células endoteliais	37
Figure 8. Poder antioxidante redutor férrico (FRAP) em células endoteliais	38

RESUMO

A pré-eclâmpsia (PE) é marcada por disfunção endotelial significativa, onde uma redução na biodisponibilidade do óxido nítrico (NO, do inglês *nitric oxide*) é particularmente significativa. Nesse contexto, esta dissertação está dividida em dois capítulos que abordam as repercussões da doença em modelo *in vitro* de PE. O Capítulo 1 apresenta o artigo publicado na revista *Cells*, intitulado "*Nebivolol increases nitric oxide synthase via β 3 adrenergic receptor in endothelial cells following exposure to plasma from preeclamptic patients.*" Neste estudo, exploramos a ação do fármaco nebivolol em reestabelecer os níveis de NO em células endoteliais (CEs) expostas ao plasma de pacientes com PE. Encontramos que, as CEs incubadas com plasma de mulheres com PE apresentam menores níveis de NO em comparação com o grupo de células que recebeu o plasma de gestantes saudáveis. Entretanto, o tratamento com nebivolol reestabelece estes níveis, e essa ação está relacionada parcialmente pela ativação dos receptores do tipo β 3 adrenérgicos e pela NO sintase endotelial (eNOS). Nossos resultados sugerem que o nebivolol atua na síntese de NO através da ativação da eNOS e dos receptores β 3 adrenérgicos no endotélio. No entanto, mais estudos serão necessários para compreender esta molécula. No Capítulo 2, apresentamos um artigo inédito intitulado "*Shear Stress and nebivolol in Preeclampsia: Modulating the NO pathway.*" Neste estudo, o objetivo foi investigar como a tensão de cisalhamento (*shear stress*) e o nebivolol podem influenciar a via do NO; produção de espécies reativas de oxigênio (ROS); expressão de moléculas de adesão e a atividade antioxidante. Encontramos que, o plasma de PE aumenta a fosforilação da enzima eNOS no resíduo Serina1177, e o tratamento com nebivolol resulta em uma elevação adicional dessa fosforilação comparado ao grupo de CEs incubadas apenas com plasma de PE. As CEs tratadas com plasma de PE também demonstram maior capacidade antioxidante e níveis reduzidos de ROS em comparação com as CEs tratados com plasma de gestante saudáveis. Além disso, o plasma de PE diminui a expressão das moléculas de adesão ICAM-1 e VCAM-1, que desempenham papéis essenciais na adesão celular. A intervenção do nebivolol influencia a via do NO e a liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS), ao mesmo tempo que regula positivamente os marcadores de adesão. O estudo ressalta o potencial do plasma de PE em modular a função endotelial e destaca o nebivolol como uma possível ação farmacológica. Em conjunto, os dois estudos apresentam resultados importantes em relação à disfunção endotelial na PE e lançam luz sobre um novo fármaco capaz de modular marcadores presentes na doença, como o NO.

ABSTRACT

Preeclampsia (PE) is characterized by significant endothelial dysfunction, where a reduction in the bioavailability of nitric oxide (NO) is particularly significant. In this context, this dissertation is divided into two chapters that address the implications of the disease in an in vitro model of PE. Chapter 1 presents the article published in the journal *Cells*, titled "Nebivolol increases nitric oxide synthase via β 3 adrenergic receptor in endothelial cells following exposure to plasma from preeclamptic patients." In this study, we explore the action of the drug nebivolol in reestablishing NO levels in endothelial cells (ECs) exposed to plasma from PE patients. We found that ECs incubated with plasma from women with PE have lower NO levels compared to the group of cells that received plasma from healthy pregnant women. However, treatment with nebivolol restores these levels, and this action is partially related to the activation of β 3 adrenergic receptors and endothelial nitric oxide synthase (eNOS). Our results suggest that nebivolol acts on NO synthesis through the activation of eNOS and β 3 adrenergic receptors in the endothelium. However, further studies will be necessary to understand this molecule. In Chapter 2, we present an unpublished article titled "Shear Stress and nebivolol in Preeclampsia: Modulating the NO pathway." In this study, the objective was to investigate how shear stress and nebivolol can influence the NO pathway, production of reactive oxygen species (ROS), expression of adhesion molecules, and antioxidant activity. We found that PE plasma increases the phosphorylation of the eNOS enzyme at Serine1177, and treatment with nebivolol results in additional elevation of this phosphorylation compared to the group of ECs incubated only with PE plasma. ECs treated with PE plasma also demonstrate greater antioxidant capacity and reduced levels of reactive oxygen species (ROS) compared to ECs treated with plasma from healthy pregnant women. Furthermore, PE plasma decreases the expression of adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1, which play essential roles in cell adhesion. Nebivolol intervention influences the NO pathway and the release of ROS while positively regulating adhesion markers. The study highlights the potential of PE plasma in modulating endothelial function and underscores nebivolol as a potential pharmacological intervention. Taken together, the two studies present important results regarding endothelial dysfunction in PE and shed light on a new drug capable of modulating markers present in the disease, such as NO.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	13
1. Mortalidade materna: uma perspectiva global e o cenário brasileiro.....	13
2. Pré-eclâmpsia.....	14
2.1. Disfunção endotelial e a importância do óxido nítrico.....	16
3. Justificativa.....	18
CAPÍTULO 1	19
1. Introduction	20
2. Methods	21
3. Results	22
4. Conclusions	23
5. References	24
CAPÍTULO 2	26
1. Introduction	29
2. Material and methods	30
3. Results	35
4. Discussion.....	40
5. References	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
ANEXOS.....	67
Disciplinas cursadas no Programa.....	68
Disciplinas aproveitadas	68
Artigos publicados.....	68
Participação em eventos científicos.....	69

INTRODUÇÃO

1. Mortalidade materna: uma perspectiva global e o cenário brasileiro

Em todo o mundo, estima-se que ocorreram cerca de 287 mil mortes maternas em 2020, a maioria delas em países de baixa e média renda e de causas evitáveis (SAY et al., 2014). A definição de mortalidade materna abrange especificamente a morte de uma mulher durante a gestação ou até 42 dias após o parto, devido a causas relacionadas ou agravadas pela própria gravidez ou seu manejo, excluindo óbitos acidentais ou incidentais (WHO, 2015). Essa definição permite uma identificação precisa das mortes maternas, levando em consideração suas causas diretas ou indiretas (WHO, 2015). A razão de mortalidade materna (RMM), um dos indicadores globais mais importantes em saúde, é calculada como o número de mortes por causas relacionadas à gestação, parto e puerpério (até 42 dias após o parto) a cada 100 mil nascidos vivos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

As desigualdades no acesso à serviços de saúde de qualidade são evidenciadas pelo alto número de mortes maternas em determinadas regiões do mundo, ressaltando a disparidade entre os países ricos e pobres. Em 2020, a RMM em países de baixa renda foi de 430 por 100 mil nascidos vivos, em contraste com apenas 12 por 100 mil nascidos vivos em países de alta renda. Essa diferença alarmante é ainda mais evidente quando observamos o Índice de Estados Frágeis (FSI, do inglês *Fragile States Index*), que classifica nove países em "alerta muito alto" ou "alerta alto", com taxas de mortalidade materna variando de 30 (República Árabe da Síria) a 1223 (Sudão do Sul). Além disso, as mulheres em países de baixa renda enfrentam um risco maior de morte materna ao longo da vida. Essas discrepâncias reforçam a necessidade urgente de abordar as barreiras socioeconômicas que impedem o acesso equitativo aos cuidados de saúde materna e implementar estratégias eficazes para reduzir a mortalidade materna em todo o mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

No Brasil, análises feitas pelo Observatório Obstétrico Brasileiro (OOBr) com base em dados do Ministério da Saúde revelaram um aumento significativo nos óbitos de gestantes em 2021, quase dobrando em relação a 2019 (OOBR, 2022). No ano de 2021, a taxa de mortalidade materna foi de 110 mortes a cada 100 mil nascidos vivos, o que é equivalente à mesma taxa registrada em 1998 (OOBR, 2022). Em comparação, em 2019 a taxa foi de 57,9 mortes por 100 mil nascidos vivos e em 2020 foi de 71,9 mortes (OOBR, 2022). O Brasil estabeleceu como meta, em conjunto com as Nações Unidas, a redução

da taxa de mortalidade materna para 30 mortes por 100 mil nascidos vivos até 2030 (OOBR, 2022). Em países desenvolvidos, essa taxa varia em torno de 10 mortes por 100 mil nascidos vivos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). Esses números destacam a urgência de medidas e investimentos para melhorar a saúde materna no país e alcançar as metas estabelecidas.

As mulheres em todo o mundo enfrentam riscos de complicações durante e após a gravidez e o parto, algumas das quais podem ser fatais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). A maioria dessas complicações ocorre durante a gravidez e muitas delas são evitáveis ou tratáveis com intervenções adequadas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). Entre as complicações mais prevalentes, que contribuem para aproximadamente 75% de todas as mortes maternas, estão: hemorragia (principalmente após o parto); infecções (geralmente pós-parto); hipertensão arterial durante a gravidez (pré-eclâmpsia e eclâmpsia); complicações do parto e aborto inseguro (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

A ONU enfatiza a importância de garantir que todas as mulheres tenham acesso a cuidados de saúde de qualidade durante a gravidez, no momento do parto e no pós-parto (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). A saúde materna e a saúde do recém-nascido estão intrinsecamente ligadas, e é crucial que todos os partos sejam realizados por profissionais de saúde qualificados (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). A gestão adequada e o tratamento oportuno podem fazer a diferença entre a vida e a morte para as mulheres e seus recém-nascidos.

2. Pré-eclâmpsia

A pré-eclâmpsia (PE) afeta cerca de 5-7% das mulheres grávidas globalmente, resultando em mais de 70 mil mortes maternas e 500 mil mortes fetais a cada ano (RANA et al., 2019). No Brasil, a incidência da PE é de 1,5% e 0,6% para a eclâmpsia, quadro mais grave da doença (RAMOS; SASS; COSTA, 2017). A PE é definida, pelo Colégio Americano de Obstetras e Ginecologistas (ACOG, do inglês *American College of Obstetrics and Gynecology*), por um novo início de hipertensão (pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica ≥ 90 mmHg) em duas medições com 4h de intervalo em repouso, e frequentemente acompanhada por proteinúria e comprometimento de órgãos-alvo como cérebro e fígado (ACOG, 2020).

Nesse contexto, os fatores determinantes da síndrome incluem histórico familiar, predisposição genética, número de gestações, idade materna, uso de fertilização *in vitro*

e condições médicas maternas, como hipertensão pré-existente, diabetes, doença renal crônica (DRC) e obesidade (BARTSCH et al., 2016; HUTCHEON; LISONKOVA; JOSEPH, 2011). Existem condições que estão associadas ao aumento da massa placentária, como gestações multifetais e mola hidatiforme, as quais também aumentam o risco de PE (KARUMANCHI, 2016). Indivíduos que foram frutos de gestações afetadas pela PE possuem um risco maior de vivenciarem ou serem pais com uma gravidez complicada pela PE, e esse risco persiste mesmo após suas primeiras gestações (ESPLIN et al., 2001; SKJAERVEN et al., 2005). Estudos indicam que cerca de 55% da doença apresentam base hereditária, com as contribuições genéticas maternas e fetais correspondendo a aproximadamente 30-35% e 20% do risco, respectivamente (GRAY; SAXENA; KARUMANCHI, 2018).

A fisiopatologia da PE se apresenta como uma síndrome de dois estágios (ROBERTS; HUBEL, 2009). O primeiro estágio é descrito como a redução da perfusão placentária, considerada a origem da doença e este se traduz, em algumas, mas não em todas as mulheres, no segundo estágio, a síndrome materna multissistêmica (REDMAN; SACKS; SARGENT, 1999; ROBERTS; GAMMILL, 2005). O primeiro estágio ocorre devido à remodelação incompleta das artérias espiraladas uterinas, que são responsáveis pelo suprimento do espaço interviloso. Dessa forma, a chegada de sangue à placenta fica comprometida, levando à isquemia placentária (ROBERTS et al., 1989). Além disso, em uma gestação saudável, o diâmetro luminal vascular é aumentado em quatro vezes, e a parede do vaso é modificada devido à perda de músculo liso e da lâmina elástica interna (ROBERTS; GAMMILL, 2005). No entanto, na PE, essa remodelação vascular não ocorre de forma completa, restringindo-se às porções superficiais do vaso, encontradas na decídua (ROBERTS; GAMMILL, 2005). Logo, o segundo estágio é estabelecido, no qual ocorre a liberação, pela placenta, de diversas moléculas, incluindo fatores anti-angiogênicos, na corrente sanguínea materna, levando à disfunção endotelial generalizada, hipertensão e lesão de órgãos-alvo (KARUMANCHI, 2016; MAYNARD; KARUMANCHI, 2011).

Diante do diagnóstico e dos possíveis desdobramentos negativos da doença, o controle clínico da paciente é sinônimo de prevenção da mortalidade materna e perinatal (RAMOS; SASS; COSTA, 2017). Por isso, entre as orientações para o gerenciamento da PE, destaca-se os tratamentos farmacológicos e não farmacológicos (REGITZ-ZAGROSEK et al., 2011). As abordagens não farmacológicas incluem repouso hospitalar ou domiciliar e acompanhamento laboratorial (ACOG, 2020). Por sua vez, a abordagem

farmacológica faz uso dos anti-hipertensivos para controlar os valores de pressão arterial e a presença ou não de sinais e sintomas relacionados aos níveis pressóricos (ACOG, 2020). As classes de agentes anti-hipertensivos mais utilizados são os simpáticos de ação central, α 2-agonistas (metildopa e clonidina); bloqueadores de canais de cálcio (nifedipino e anlodipino); vasodilatores periféricos, recomendados em associação com medicamentos para controle pressórico (hidralazina) e antagonistas de adrenoreceptores β (metoprolol e carvedilol) (LEFEVRE; KRUMM, 2019; PODYMOW; AUGUST, 2008; WEBSTER et al., 2017). Apesar da diversidade de intervenções disponíveis, todas elas são apenas paliativas, destinadas a aliviar as consequências da doença. O tratamento, contudo, só é alcançado por meio do parto (IVES et al., 2020).

2.1. Disfunção endotelial e a importância do óxido nítrico

Entre as diversas manifestações da disfunção endotelial na PE, as espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS), como o óxido nítrico (NO, do inglês *nitric oxide*), superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e peroxinitrito ($ONOO^-$) desempenham papel fundamental como moléculas sinalizadoras e reguladoras dentro das repercussões da doença (AOUACHE et al., 2018). A sinalização de ROS e RNS são controladas diretamente pela defesa antioxidante do organismo, que sequestra estas moléculas oxidantes em condições fisiológicas (DI MEO et al., 2016). Na gestação saudável, é bem estabelecido que a produção de ROS ocorre em concentrações elevadas e é necessária para regulação da homeostase vascular (DUHIG; CHAPPELL; SHENNAN, 2016). No entanto, um cenário completamente diferente se manifesta quando há o desequilíbrio entre a capacidade antioxidante e as espécies pró-oxidantes, resultando no estresse oxidativo observado na PE (HUBEL, 1999; MYATT; CUI, 2004).

A descoberta de um fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF, do inglês *endothelium-derived relaxing factor*) que, posteriormente, foi identificado como óxido nítrico, revolucionou o conhecimento sobre diversos processos biológicos no organismo (FURCHGOTT; ZAWADZKI, 1980; IGNARRO et al., 1987). O NO é uma molécula multifacetada, protagonista de ações vasodilatadoras, anti-plaquetárias e angiogênicas (ALHEID; FRÖLICH; FÖRSTERMANN, 1987; FURCHGOTT et al., 1984; ZICHE et al., 1994). Além disso, é sintetizado pelo substrato L-arginina por uma família de enzimas dependentes de cálcio (Ca^{2+})/calmodulina (CaM), chamadas de óxido nítrico sintase (NOS, do inglês NO synthase EC 1.14.13.39); sendo a mais importante, nesse contexto, a NOS endotelial (eNOS, do inglês endothelial NO synthase) (MURAD, 1994). É

produzido, predominantemente pelo endotélio em resposta à estímulos mecânicos e químicos que incluem a tensão de cisalhamento endotelial, o chamado *shear stress*, e a ativação via receptores por agonistas, respectivamente (FULTON et al., 2008; TSAO et al., 1995).

O *shear stress* é uma força mecânica que afeta as camadas adjacentes dos vasos sanguíneos, atuando em diferentes velocidades ou direções (HOEFER; DEN ADEL; DAEMEN, 2013). O *shear stress* laminar (unidirecional e constante) é conhecido por exercer um efeito protetivo contra lesões ateroscleróticas, enquanto o *shear stress* oscilatório (irregular e turbulento) está associado a efeitos relacionados à aterosclerose (DIMMELER et al., 1996; KU et al., 1985; LEVESQUE; NEREM; SPRAGUE, 1990; MALEK; ALPER; IZUMO, 1999). O fluxo laminar aumenta a expressão gênica da eNOS, além de elevar a capacidade das células endoteliais de liberar NO (UEMATSU et al., 1995). Essa ação está relacionada diretamente com a fosforilação da eNOS no resíduo Serina1177 (Ser1177), o que resulta na ativação dessa enzima (FISSLTHALER et al., 2000; GO et al., 1998). Da mesma maneira, a produção de NO é regulada pela ação de agonistas (FLEMING; BUSSE, 1999). Um agonista é uma molécula capaz de se ligar e ativar funcionalmente um receptor e neste caso aumentar a concentração de Ca^{2+} livre e a associação do Ca^{2+}/CaM resultando na liberação de NO (ZHAO; VANHOUTTE; LEUNG, 2015). Nesse contexto, o fármaco nebivolol se destaca pelos seus efeitos agonistas no endotélio, através da ativação do adrenoreceptor do tipo β_3 . Esse processo resulta na ativação da eNOS e conseqüentemente liberação de NO (BUENO-PEREIRA et al., 2022; DESSY et al., 2005).

Nessa perspectiva, a diminuição da biodisponibilidade de NO é identificada como um fator adicional relevante na disfunção endotelial característica da PE (DAVIDGE; STRANKO; ROBERTS, 1996; SANDRIM et al., 2008; SELIGMAN et al., 1994). Essa redução acontece devido ao microambiente de estresse oxidativo, característico da doença, que faz com que o NO gerado reaja com O_2^- e forme $ONOO^-$, molécula encontrada em altas concentrações na vasculatura de mulheres pré-eclâmpticas (BECKMAN; KOPPENOL, 1996; LOWE, 2000; ROGGENSACK; ZHANG; DAVIDGE, 1999). Outro motivo dessa redução é o aumento dos níveis de dimetilarginina assimétrica (ADMA, do inglês *asymmetric dimethylarginine*), molécula produzida de maneira endógena e reconhecida por ser por ser inibidora competitiva da NOS quando está em altas concentrações (CHEN; XIA; ZHAO, 1997; HOLDEN et al., 1998). Da mesma maneira, a enzima arginase (EC 3.5.3.1) compete pelo mesmo substrato da NOS,

L-arginina, para formar uréia e L-ornitina (ASH, 2004). Em altas concentrações como as observadas no plasma, plaquetas e vasculatura de mulheres com PE, a enzima se liga ao substrato comum da NOS e conseqüentemente reduz os níveis de NO (JAE et al., 2009; PIMENTEL et al., 2013; SANKARALINGAM; XU; DAVIDGE, 2010).

3. Justificativa

In suma, apesar dos inúmeros estudos sobre a PE, incluindo a descoberta de novos biomarcadores e possíveis novos tratamentos, a forma de intervenção farmacológica mais utilizada ainda são anti-hipertensivos (ACOG, 2020). Investigar os mecanismos pelos quais a disfunção endotelial se desenvolve e como esse aspecto afeta as células endoteliais em modelo *in vitro* é de suma importância para propor tratamentos farmacológicos mais efetivos. Inicialmente, incubamos as células endoteliais em condições estáticas com plasma de mulheres com PE, submetidas à intervenção farmacológica do nebivolol. O objetivo foi avaliar a dependência da ativação do receptor β_3 na produção intracelular de óxido nítrico (NO) (Capítulo 1). No segundo momento, incubamos as células endoteliais em condições de *shear stress* com plasma de mulheres com PE, submetidas à intervenção farmacológica do nebivolol. O objetivo foi investigar a ativação da eNOS, em níveis de fosforilação e de quantificação das concentrações de nitrito/nitrato, além de avaliar o papel do nebivolol em restabelecer os níveis de NO e ROS, em modular as moléculas de adesão endotelial e a atividade antioxidante, nesse contexto (Capítulo 2). Acreditamos que os dados obtidos pelo modelo *in vitro* podem ser uma ferramenta valiosa para orientar estudos clínicos com potenciais fármacos destinados ao tratamento da PE. É importante ressaltar que, embora o conhecimento sobre a disfunção endotelial na doença e os mecanismos subjacentes estejam avançando, o desenvolvimento de medicamentos ainda não acompanha esse progresso. A falta de investimentos das indústrias farmacêuticas nessa área provavelmente se deve ao elevado risco associado ao tratamento de gestantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOG. ACOG Practice Bulletin Clinical Management Guidelines for Obstetrician Gynecologists. Gestational Hypertension and Preeclampsia. **Obstetrics & Gynecology**, [S. l.], v. 135, n. 6, p. e237–e260, 2020.

ALHEID, U.; FRÖLICH, J. C.; FÖRSTERMANN, U. Endothelium-derived relaxing factor from cultured human endothelial cells inhibits aggregation of human platelets. **Thrombosis research**, United States, v. 47, n. 5, p. 561–571, 1987. DOI: 10.1016/0049-3848(87)90361-6.

ANDO, J.; KAMIYA, A. Blood flow and vascular endothelial cell function. **Frontiers of medical and biological engineering : the international journal of the Japan Society of Medical Electronics and Biological Engineering**, Netherlands, v. 5, n. 4, p. 245–264, 1993.

AOUACHE, Rajaa; BIQUARD, Louise; VAIMAN, Daniel; MIRALLES, Francisco. Oxidative Stress in Preeclampsia and Placental Diseases. **International journal of molecular sciences**, Switzerland, v. 19, n. 5, 2018. DOI: 10.3390/ijms19051496.

ASH, David E. Structure and function of arginases. **Journal of Nutrition**, [S. l.], v. 134, n. 10 SUPPL., p. 2760–2764, 2004. DOI: 10.1093/jn/134.10.2760s.

AUSTGULEN, R.; LIEN, E.; VINCE, G.; REDMAN, C. W. Increased maternal plasma levels of soluble adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1, E-selectin) in preeclampsia. **European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology**, Ireland, v. 71, n. 1, p. 53–58, 1997. DOI: 10.1016/s0301-2115(96)02647-4.

BAKER, P. N.; STRANKO, C. P.; DAVIDGE, S. T.; DAVIES, P. S.; ROBERTS, J. M. Mechanical stress eliminates the effects of plasma from patients with preeclampsia on endothelial cells. **American journal of obstetrics and gynecology**, United States, v. 174, n. 2, p. 730–736, 1996. DOI: 10.1016/s0002-9378(96)70457-x.

BAKER, Philip N.; DAVIDGE, Sandra T.; ROBERTS, James M. Plasma from women with preeclampsia increases endothelial cell nitric oxide production. **Hypertension**, [S. l.], v. 26, n. 2, p. 244–248, 1995. DOI: 10.1161/01.HYP.26.2.244.

BARROSO, Helena C.; GRATON, Murilo E.; POTJE, Simone R.; TROIANO, Jéssica A.; SILVA, Lilian X.; NAKAMUNE, Ana Cláudia M. S.; ANTONIALI, Cristina. Data of Nebivolol on oxidative stress parameters in hypertensive patients. **Data in brief**, Netherlands, v. 41, p. 107913, 2022. DOI: 10.1016/j.dib.2022.107913.

BARTSCH, Emily; MEDCALF, Karyn E.; PARK, Alison L.; RAY, Joel G. Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: systematic review and meta-analysis of large cohort studies. **BMJ (Clinical research ed.)**, England, v. 353, p. i1753, 2016. DOI: 10.1136/bmj.i1753.

BECKMAN, J. S.; KOPPENOL, W. H. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. **The American journal of physiology**, United States, v. 271, n. 5 Pt 1, p. C1424-37, 1996. DOI: 10.1152/ajpcell.1996.271.5.C1424.

BOWMAN, A. J.; CHEN, C. P.; FORD, G. A. Nitric oxide mediated venodilator effects of nebivolol. **British journal of clinical pharmacology**, England, v. 38, n. 3, p. 199–204, 1994. DOI: 10.1111/j.1365-2125.1994.tb04342.x.

BUENO-PEREIRA, Thaina Omia; NUNES, Priscila Rezeck; MATHEUS, Mariana Bertozzi; DA ROCHA, Ananda Lini Vieira; SANDRIM, Valeria Cristina. Nebivolol Increases Nitric Oxide Synthase via β 3 Adrenergic Receptor in Endothelial Cells Following Exposure to Plasma from Preeclamptic Patients. **Cells**, [S. l.], v. 11, n. 5, p. 2020–2023, 2022. DOI: 10.3390/cells11050883.

CALDEIRA-DIAS, Mayara; MONTENEGRO, Marcelo F.; BETTIOL, Heloisa; BARBIERI, Marco Antonio; CARDOSO, Viviane C.; CAVALLI, Ricardo C.; SANDRIM, Valéria C. Resveratrol improves endothelial cell markers impaired by plasma incubation from women who subsequently develop preeclampsia. **Hypertension Research**, [S. l.], v. 42, n. 8, p. 1166–1174, 2019. DOI: 10.1038/s41440-019-0243-5. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41440-019-0243-5>.

CALDEIRA-DIAS, Mayara; VIANA-MATTIOLI, Sarah; DE SOUZA RANGEL MACHADO, Jackeline; CARLSTRÖM, Mattias; DE CARVALHO CAVALLI, Ricardo; SANDRIM, Valéria Cristina. Resveratrol and grape juice: Effects on redox status and nitric oxide production of endothelial cells in in vitro preeclampsia model. **Pregnancy Hypertension**, [S. l.], v. 23, n. June 2020, p. 205–210, 2021. DOI: 10.1016/j.preghy.2021.01.001.

CHEN, B. M.; XIA, L. W.; ZHAO, R. Q. Determination of N(G),N(G)-dimethylarginine in human plasma by high-performance liquid chromatography. **Journal of chromatography. B, Biomedical sciences and applications**, Netherlands, v. 692, n. 2, p. 467–471, 1997. DOI: 10.1016/s0378-4347(96)00531-2.

CHEN, Xiuping; ANDRESEN1, Bradley T.; HILL, Michael; ZHANG, Jing; BOOTH, Frank; ZHANG, Cuihua. Role of Reactive Oxygen Species in Tumor Necrosis

Factor-alpha Induced Endothelial Dysfunction. **Current hypertension reviews**, United Arab Emirates, v. 4, n. 4, p. 245–255, 2008. DOI: 10.2174/157340208786241336.

COMINACINI, Luciano; PASINI, Anna Fratta; GARBIN, Ulisse; NAVA, Cristina; DAVOLI, Anna; CRISCUOLI, Marco; CREA, Attilio; SAWAMURA, Tatsuya; CASCIO, Vincenzo Lo. Nebivolol and its 4-Keto Derivative Increase Nitric Oxide in Endothelial Cells by Reducing its Oxidative Inactivation. **Journal of the American College of Cardiology**, [S. l.], v. 42, n. 10, p. 1838–1844, 2003. DOI: 10.1016/j.jacc.2003.06.011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2003.06.011>.

DAVIDGE, S. T.; BAKER, P. N.; ROBERTS, J. M. NOS expression is increased in endothelial cells exposed to plasma from women with preeclampsia. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, [S. l.], v. 269, n. 3 38-3, 1995. DOI: 10.1152/ajpheart.1995.269.3.h1106.

DAVIDGE, S. T.; STRANKO, C. P.; ROBERTS, J. M. Urine but not plasma nitric oxide metabolites are decreased in women with preeclampsia. **American journal of obstetrics and gynecology**, United States, v. 174, n. 3, p. 1008–1013, 1996. DOI: 10.1016/s0002-9378(96)70341-1.

DESSY, Chantai et al. Endothelial β_3 -adrenoreceptors mediate nitric oxide-dependent vasorelaxation of coronary microvessels in response to the third-generation β -blocker nebivolol. **Circulation**, [S. l.], v. 112, n. 8, p. 1198–1205, 2005. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.104.532960.

DI MEO, Sergio; REED, Tanea T.; VENDITTI, Paola; VICTOR, Victor Manuel. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. **Oxidative medicine and cellular longevity**, United States, v. 2016, p. 1245049, 2016. DOI: 10.1155/2016/1245049.

DIMMELER, S.; FLEMING, I.; FISSALTHALER, B.; HERMANN, C.; BUSSE, R.; ZEIHNER, A. M. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. **Nature**, England, v. 399, n. 6736, p. 601–605, 1999. DOI: 10.1038/21224.

DIMMELER, S.; HAENDELER, J.; RIPPMMANN, V.; NEHLS, M.; ZEIHNER, A. M. Shear stress inhibits apoptosis of human endothelial cells. **FEBS letters**, England, v. 399, n. 1–2, p. 71–74, 1996. DOI: 10.1016/s0014-5793(96)01289-6.

DUHIG, Kate; CHAPPELL, Lucy C.; SHENNAN, Andrew H. Oxidative stress in pregnancy and reproduction. **Obstetric medicine**, England, v. 9, n. 3, p. 113–116, 2016. DOI: 10.1177/1753495X16648495.

ENDRESEN, M. J.; MORRIS, J. M.; NOBREGA, A. C.; BUCKLEY, D.; LINTON, E. A.; REDMAN, C. W. Serum from preeclamptic women induces vascular cell adhesion molecule-1 expression on human endothelial cells in vitro: a possible role of increased circulating levels of free fatty acids. **American journal of obstetrics and gynecology**, United States, v. 179, n. 3 Pt 1, p. 665–670, 1998. DOI: 10.1016/s0002-9378(98)70061-4.

ESPLIN, M. S.; FAUSETT, M. B.; FRASER, A.; KERBER, R.; MINEAU, G.; CARRILLO, J.; VARNER, M. W. Paternal and maternal components of the predisposition to preeclampsia. **The New England journal of medicine**, United States, v. 344, n. 12, p. 867–872, 2001. DOI: 10.1056/NEJM200103223441201.

FISSLTHALER, B.; DIMMELER, S.; HERMANN, C.; BUSSE, R.; FLEMING, I. Phosphorylation and activation of the endothelial nitric oxide synthase by fluid shear stress. **Acta physiologica Scandinavica**, England, v. 168, n. 1, p. 81–88, 2000. DOI: 10.1046/j.1365-201x.2000.00627.x.

FLEMING, Ingrid; BUSSE, Rudi. Signal transduction of eNOS activation. **Cardiovascular Research**, [S. l.], v. 43, n. 3, p. 532–541, 1999. DOI: 10.1016/S0008-6363(99)00094-2. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(99\)00094-2](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(99)00094-2).

FÖRSTERMANN, Ulrich; SESSA, William C. Nitric oxide synthases: Regulation and function. **European Heart Journal**, [S. l.], v. 33, n. 7, p. 829–837, 2012. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr304.

FRATTA PASINI, Anna; GARBIN, Ulisse; NAVA, Maria Cristina; STRANIERI, Chiara; DAVOLI, Anna; SAWAMURA, Tatsuya; LO CASCIO, Vincenzo; COMINACINI, Luciano. Nebivolol decreases oxidative stress in essential hypertensive patients and increases nitric oxide by reducing its oxidative inactivation. **Journal of hypertension**, Netherlands, v. 23, n. 3, p. 589–596, 2005. DOI: 10.1097/01.hjh.0000160216.86597.ff.

FULTON, David; RUAN, Ling; SOOD, Sarika G.; LI, Chunying; ZHANG, Qian; VENEMA, Richard C. Agonist-stimulated endothelial nitric oxide synthase activation and vascular relaxation. Role of eNOS phosphorylation at Tyr83. **Circulation research**, United States, v. 102, n. 4, p. 497–504, 2008. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.107.162933.

FURCHGOTT, R. F.; CHERRY, P. D.; ZAWADZKI, J. V.; JOTHIANANDAN, D. Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries. **Journal of cardiovascular pharmacology**, United States, v. 6 Suppl 2, p. S336-43, 1984. DOI: 10.1097/00005344-198406002-00008.

FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, England, v. 288, n. 5789, p. 373–376, 1980. DOI: 10.1038/288373a0.

GAO, Y. S.; NAGAO, T.; BOND, R. A.; JANSSENS, W. J.; VANHOUTTE, P. M. Nebivolol induces endothelium-dependent relaxations of canine coronary arteries. **Journal of cardiovascular pharmacology**, United States, v. 17, n. 6, p. 964–969, 1991. DOI: 10.1097/00005344-199106000-00016.

GARBIN, Ulisse et al. Effects of nebivolol on endothelial gene expression during oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells. **Mediators of Inflammation**, [S. l.], v. 2008, 2008. DOI: 10.1155/2008/367590.

GO, Y. M.; PARK, H.; MALAND, M. C.; DARLEY-USMAR, V. M.; STOYANOV, B.; WETZKER, R.; JO, H. Phosphatidylinositol 3-kinase gamma mediates shear stress-dependent activation of JNK in endothelial cells. **The American journal of physiology**, United States, v. 275, n. 5, p. H1898-904, 1998. DOI: 10.1152/ajpheart.1998.275.5.H1898.

GOLDSTEIN, S. Beta-blocking drugs and coronary heart disease. **Cardiovascular drugs and therapy**, United States, v. 11 Suppl 1, p. 219–225, 1997. DOI: 10.1023/a:1007711025487.

GRAY, Kathryn J.; SAXENA, Richa; KARUMANCHI, S. Ananth. Genetic predisposition to preeclampsia is conferred by fetal DNA variants near FLT1, a gene involved in the regulation of angiogenesis. **American journal of obstetrics and gynecology**, United States, v. 218, n. 2, p. 211–218, 2018. DOI: 10.1016/j.ajog.2017.11.562.

HALLER, H.; ZIEGLER, E. M.; HOMUTH, V.; DRAB, M.; EICHHORN, J.; NAGY, Z.; BUSJAHN, A.; VETTER, K.; LUFT, F. C. Endothelial adhesion molecules and leukocyte integrins in preeclamptic patients. **Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)**, United States, v. 29, n. 1 Pt 2, p. 291–296, 1997. DOI: 10.1161/01.hyp.29.1.291.

HOEFER, Imo E.; DEN ADEL, Brigit; DAEMEN, Mat J. A. P. Biomechanical factors as triggers of vascular growth. **Cardiovascular research**, England, v. 99, n. 2, p. 276–283, 2013. DOI: 10.1093/cvr/cvt089.

HOLDEN, D. P.; FICKLING, S. A.; WHITLEY, G. S.; NUSSEY, S. S. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine, a natural inhibitor of nitric oxide synthase, in normal pregnancy and preeclampsia. **American journal of obstetrics and gynecology**, United States, v. 178, n. 3, p. 551–556, 1998. DOI: 10.1016/s0002-9378(98)70437-5.

HUBEL, C. A. Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)**, United States, v. 222, n. 3, p. 222–235, 1999. DOI: 10.1177/153537029922200305.

HUTCHEON, Jennifer A.; LISONKOVA, Sarka; JOSEPH, K. S. Epidemiology of pre-eclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy. **Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology**, [S. l.], v. 25, n. 4, p. 391–403, 2011. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2011.01.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2011.01.006>.

IGNARRO, L. J.; BUGA, G. M.; WOOD, K. S.; BYRNS, R. E.; CHAUDHURI, G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, United States, v. 84, n. 24, p. 9265–9269, 1987. DOI: 10.1073/pnas.84.24.9265.

IVES, Christopher W.; SINKEY, Rachel; RAJAPREYAR, Indranee; TITA, Alan T. N.; OPARIL, Suzanne. Preeclampsia—Pathophysiology and Clinical Presentations: JACC State-of-the-Art Review. **Journal of the American College of Cardiology**, [S. l.], v. 76, n. 14, p. 1690–1702, 2020. DOI: 10.1016/j.jacc.2020.08.014.

JAE, Hyung Kim et al. Arginase inhibition restores NOS coupling and reverses endothelial dysfunction and vascular stiffness in old rats. **Journal of Applied Physiology**, [S. l.], v. 107, n. 4, p. 1249–1257, 2009. DOI: 10.1152/jappphysiol.91393.2008.

KARUMANCHI, S. Ananth. Angiogenic factors in preeclampsia: From diagnosis to therapy. **Hypertension**, [S. l.], v. 67, n. 6, p. 1072–1079, 2016. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.06421.

KIM, Shin Young et al. Maternal serum levels of VCAM-1, ICAM-1 and E-selectin in preeclampsia. **Journal of Korean Medical Science**, [S. l.], 2004. DOI: 10.3346/jkms.2004.19.5.688.

KU, D. N.; GIDDENS, D. P.; ZARINS, C. K.; GLAGOV, S. Pulsatile flow and atherosclerosis in the human carotid bifurcation. Positive correlation between plaque location and low oscillating shear stress. **Arteriosclerosis (Dallas, Tex.)**, United States, v. 5, n. 3, p. 293–302, 1985. DOI: 10.1161/01.atv.5.3.293.

LADAGE, Dennis; BRIXIUS, Klara; HOYER, Heike; STEINGEN, Caroline; WESSELING, Andreas; MALAN, Daniela; BLOCH, Wilhelm; SCHWINGER, Robert H. G. Mechanisms underlying nebivolol-induced endothelial nitric oxide synthase activation in human umbilical vein endothelial cells. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, [S. l.], v. 33, n. 8, p. 720–724, 2006. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2006.04424.x.

LEFEVRE, Nicholas; KRUMM, Ellisa. Antihypertensive drug therapy for mild to moderate hypertension during pregnancy. **American Family Physician**, [S. l.], v. 100, n. 7, p. 403–406, 2019. DOI: 10.1097/jcn.000000000000177.

LEVESQUE, M. J.; NEREM, R. M.; SPRAGUE, E. A. Vascular endothelial cell proliferation in culture and the influence of flow. **Biomaterials**, Netherlands, v. 11, n. 9, p. 702–707, 1990. DOI: 10.1016/0142-9612(90)90031-k.

LOWE, Duane T. Nitric oxide dysfunction in the pathophysiology of preeclampsia. **Nitric Oxide - Biology and Chemistry**, [S. l.], v. 4, n. 4, p. 441–458, 2000. DOI: 10.1006/niox.2000.0296.

MALEK, A. M.; ALPER, S. L.; IZUMO, S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. **JAMA**, United States, v. 282, n. 21, p. 2035–2042, 1999. DOI: 10.1001/jama.282.21.2035.

MASON, R. Preston; KALINOWSKI, Leszek; JACOB, Robert F.; JACOBY, Adam M.; MALINSKI, Tadeusz. Nebivolol reduces nitroxidative stress and restores nitric oxide bioavailability in endothelium of black Americans. **Circulation**, [S. l.], v. 112, n. 24, p. 3795–3801, 2005. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.556233.

MAYNARD, Sharon E.; KARUMANCHI, S. Ananth. Angiogenic Factors and Preeclampsia. **Seminars in Nephrology**, [S. l.], v. 31, n. 1, p. 33–46, 2011. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2010.10.004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semnephrol.2010.10.004>.

MURAD, Ferid. Regulation of Cytosolic Guanylyl Cyclase by Nitric Oxide: The NO-Cyclic GMP Signal Transduction System. **Advances in Pharmacology**, [S. l.], v. 26, n. C, p. 19–33, 1994. DOI: 10.1016/S1054-3589(08)60049-6.

MYATT, L.; EIS, A. L.; BROCKMAN, D. E.; GREER, I. A.; LYALL, F. Endothelial nitric oxide synthase in placental villous tissue from normal, pre-eclamptic and intrauterine growth restricted pregnancies. **Human reproduction (Oxford, England)**, England, v. 12, n. 1, p. 167–172, 1997. DOI: 10.1093/humrep/12.1.167.

MYATT, Leslie; CUI, Xiaolan. Oxidative stress in the placenta. **Histochemistry and cell biology**, Germany, v. 122, n. 4, p. 369–382, 2004. DOI: 10.1007/s00418-004-0677-x.

NASSIRI, Farshad; CUSIMANO, Michael D.; SCHEITHAUER, Bernd W.; ROTONDO, Fabio; FAZIO, Alessandra; YOUSEF, George M.; SYRO, Luis V; KOVACS, Kalman; LLOYD, Ricardo V. Endoglin (CD105): a review of its role in angiogenesis and tumor diagnosis, progression and therapy. **Anticancer research**, Greece, v. 31, n. 6, p. 2283–2290, 2011.

NIKUEI, Pooneh; RAJAEI, Minoo; MALEKZADEH, Kianoosh; NEJATIZADEH, Azim; MOHSENI, Fatemeh; ATASHABPARVAR, Ali. Accuracy of Soluble Endoglin for Diagnosis of Preeclampsia and its Severity. **Iranian biomedical journal**, Iran, v. 21, n. 5, p. 312–330, 2017. DOI: 10.18869/acadpub.ijb.21.5.312.

NUNES, Priscila Rezek; BUENO PEREIRA, Thaina Omia; BERTOZZI MATHEUS, Mariana; GRANDINI, Nubia Alves; SIQUEIRA, Juliana Silva; CORREA, Camila Renata; ABBADE, Joelcio Francisco; SANDRIM, Valeria Cristina. Glibenclamide Increases Nitric Oxide Levels and Decreases Oxidative Stress in an In Vitro Model of Preeclampsia. **Antioxidants (Basel, Switzerland)**, Switzerland, v. 11, n. 8, 2022. DOI: 10.3390/antiox11081620.

OOBR. Óbitos de Gestantes e Puérperas. **Observatório Obstétrico Brasileiro**, [S. l.], 2022. Disponível em: <https://observatorioobstetrico.shinyapps.io/obitos-grav-puerp/#section-sobre>.

OPPENHEIMER-MARKS, N.; DAVIS, L. S.; BOGUE, D. T.; RAMBERG, J.; LIPSKY, P. E. Differential utilization of ICAM-1 and VCAM-1 during the adhesion and transendothelial migration of human T lymphocytes. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, United States, v. 147, n. 9, p. 2913–2921, 1991.

OSBORN, L.; HESSION, C.; TIZARD, R.; VASSALLO, C.; LUHOWSKYJ, S.; CHI-ROSSO, G.; LOBB, R. Direct expression cloning of vascular cell adhesion molecule 1, a cytokine-induced endothelial protein that binds to lymphocytes. **Cell**, United States, v. 59, n. 6, p. 1203–1211, 1989. DOI: 10.1016/0092-8674(89)90775-7.

PELLER, Michał; OZIERAŃSKI, Krzysztof; BALSAM, Paweł; GRABOWSKI, Marcin; FILIPIAK, Krzysztof J.; OPOLSKI, Grzegorz. Influence of beta-blockers on endothelial function: A meta-analysis of randomized controlled trials. **Cardiology Journal**, [S. l.], v. 22, n. 6, p. 708–716, 2015. DOI: 10.5603/CJ.a2015.0042.

PETER, P.; MARTIN, U.; SHARMA, A.; DUNNE, F. Effect of treatment with nebivolol on parameters of oxidative stress in type 2 diabetics with mild to moderate hypertension. **Journal of clinical pharmacy and therapeutics**, England, v. 31, n. 2, p. 153–159, 2006. DOI: 10.1111/j.1365-2710.2006.00718.x.

PIMENTEL, Adriana M. L.; PEREIRA, Natália R.; COSTA, Cristiane A.; MANN, Giovanni E.; CORDEIRO, Viviane S. C.; DE MOURA, Roberto S.; BRUNINI, Tatiana M. C.; CLÁUDIO MENDES-RIBEIRO, Antônio; RESENDE, Ângela C. L-arginine-nitric oxide pathway and oxidative stress in plasma and platelets of patients with pre-eclampsia. **Hypertension Research**, [S. l.], v. 36, n. 9, p. 783–788, 2013. DOI: 10.1038/hr.2013.34.

PODYMOW, Tiina; AUGUST, Phyllis. Update on the use of antihypertensive drugs in pregnancy. **Hypertension**, [S. l.], v. 51, n. 4 PART 2 SUPPL., p. 960–969, 2008. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.106.075895.

RAMOS, José Geraldo Lopes; SASS, Nelson; COSTA, Sérgio Hofmeister Martins. Pré-eclâmpsia nos seus diversos aspectos. **Série Orientações e Recomendações FEBRASGO.**, [S. l.], v. 8, p. 56, 2017. Disponível em: https://www.febrasgo.org.br/media/k2/attachments/12-PRE_ECLAMPSIA.pdf.

RANA, Sarosh; LEMOINE, Elizabeth; GRANGER, Joey; KARUMANCHI, S. Ananth. Preeclampsia: Pathophysiology, Challenges, and Perspectives. **Circulation Research**, [S. l.], 2019. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313276.

REDMAN, C. W. G.; SACKS, G. P.; SARGENT, I. L. Preeclampsia: An excessive maternal inflammatory response to pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, [S. l.], v. 180, n. 2 I, p. 499–506, 1999. DOI: 10.1016/S0002-9378(99)70239-5.

REGITZ-ZAGROSEK, Vera et al. ESC Guidelines on the management of cardiovascular diseases during pregnancy. **European Heart Journal**, [S. l.], v. 32, n. 24, p. 3147–3197, 2011. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr218.

ROBERTS, J. M.; HUBEL, C. A. The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. **Placenta**, Netherlands, v. 30 Suppl A, n. Suppl A, p. S32-7, 2009. DOI: 10.1016/j.placenta.2008.11.009.

ROBERTS, James M.; GAMMILL, Hilary S. Preeclampsia: Recent insights. **Hypertension**, [S. l.], v. 46, n. 6, p. 1243–1249, 2005. DOI: 10.1161/01.HYP.0000188408.49896.c5.

ROBERTS, James M.; TAYLOR, Robert N.; MUSCI, Thomas J.; RODGERS, George M.; HUBEL, Carl A.; MCLAUGHLIN, Margaret K. Preeclampsia: An endothelial cell disorder. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, [S. l.], v. 161, n. 5, p. 1200–1204, 1989. DOI: 10.1016/0002-9378(89)90665-0. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0002-9378\(89\)90665-0](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9378(89)90665-0).

ROGGENSACK, Anne M.; ZHANG, Yunlong; DAVIDGE, Sandra T. Evidence for Peroxynitrite Formation in the Vasculature of Women With Preeclampsia. **Hypertension**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 83–89, 1999. DOI: 10.1161/01.HYP.33.1.83.

SANDRIM, Valeria C.; PALEI, Ana C. T.; METZGER, Ingrid F.; GOMES, Valeria A.; CAVALLI, Ricardo C.; TANUS-SANTOS, Jose E. Nitric oxide formation is inversely related to serum levels of antiangiogenic factors soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endogline in preeclampsia. **Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)**, United States, v. 52, n. 2, p. 402–407, 2008. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.115006.

SANKARALINGAM, Sowndramalingam; XU, Han; DAVIDGE, Sandra T. Arginase contributes to endothelial cell oxidative stress in response to plasma from women with preeclampsia. **Cardiovascular Research**, [S. l.], v. 85, n. 1, p. 194–203, 2010. DOI: 10.1093/cvr/cvp277.

SAY, Lale; CHOU, Doris; GEMMILL, Alison; TUNÇALP, Özge; MOLLER, Ann-beth; DANIELS, Jane; GÜLMEZOĞLU, A. Metin; TEMMERMAN, Marleen; ALKEMA, Leontine. Global causes of maternal death : a WHO systematic analysis. [S. l.], p. 323–333, 2014. DOI: 10.1016/S2214-109X(14)70227-X.

SELIGMAN, S. P.; BUYON, J. P.; CLANCY, R. M.; YOUNG, B. K.; ABRAMSON, S. B. The role of nitric oxide in the pathogenesis of preeclampsia. **American journal of obstetrics and gynecology**, United States, v. 171, n. 4, p. 944–948, 1994. DOI: 10.1016/s0002-9378(94)70064-8.

SHAAMASH, A. H.; ELSONOSY, E. D.; ZAKHARI, M. M.; RADWAN, S. H.; EL-DIEN, H. M. Placental nitric oxide synthase (NOS) activity and nitric oxide (NO) production in normal pregnancy, pre-eclampsia and eclampsia. **International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of**

Gynaecology and Obstetrics, United States, v. 72, n. 2, p. 127–133, 2001. DOI: 10.1016/s0020-7292(00)00314-3.

SIES, Helmut. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **Redox biology**, Netherlands, v. 4, p. 180–183, 2015. DOI: 10.1016/j.redox.2015.01.002.

SKJAERVEN, Rolv; VATTEN, Lars J.; WILCOX, Allen J.; RØNNING, Thorbjørn; IRGENS, Lorentz M.; LIE, Rolv Terje. Recurrence of pre-eclampsia across generations: exploring fetal and maternal genetic components in a population based cohort. **BMJ (Clinical research ed.)**, England, v. 331, n. 7521, p. 877, 2005. DOI: 10.1136/bmj.38555.462685.8F.

ST-JACQUES, S.; FORTE, M.; LYE, S. J.; LETARTE, M. Localization of endoglin, a transforming growth factor-beta binding protein, and of CD44 and integrins in placenta during the first trimester of pregnancy. **Biology of reproduction**, United States, v. 51, n. 3, p. 405–413, 1994. DOI: 10.1095/biolreprod51.3.405.

TRIET M. BUI, HANNAH L. WIESOLEK, Ronen Sumagin. ICAM1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis. **Physiology & behavior**, [*S. l.*], v. 63, n. 8, p. 1–18, 2014. DOI: 10.1002/JLB.2MR0220-549R.ICAM-1.

TSAO, P. S.; LEWIS, N. P.; ALPERT, S.; COOKE, J. P. Exposure to shear stress alters endothelial adhesiveness. Role of nitric oxide. **Circulation**, United States, v. 92, n. 12, p. 3513–3519, 1995. DOI: 10.1161/01.cir.92.12.3513.

UEMATSU, M.; OHARA, Y.; NAVAS, J. P.; NISHIDA, K.; MURPHY, T. J.; ALEXANDER, R. W.; NEREM, R. M.; HARRISON, D. G. Regulation of endothelial cell nitric oxide synthase mRNA expression by shear stress. **The American journal of physiology**, United States, v. 269, n. 6 Pt 1, p. C1371-8, 1995. DOI: 10.1152/ajpcell.1995.269.6.C1371.

VENKATESHA, Shivalingappa et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. **Nature medicine**, United States, v. 12, n. 6, p. 642–649, 2006. DOI: 10.1038/nm1429.

WEBSTER, Louise M.; CONTI-RAMSDEN, Frances; SEED, Paul T.; WEBB, Andrew J.; NELSON-PIERCY, Catherine; CHAPPELL, Lucy C. Impact of antihypertensive treatment on maternal and perinatal outcomes in pregnancy complicated by chronic hypertension: A systematic review and meta-analysis. **Journal of the American Heart Association**, [*S. l.*], v. 6, n. 5, 2017. DOI: 10.1161/JAHA.117.005526.

WHO. **International statistical classification of diseases and related health problems**. 10th revis ed. Geneva PP - Geneva: World Health Organization, 2015. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/246208>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Trends in Maternal Mortality. **World Health Organization**, [S. l.], p. ix–xii, 2019. DOI: 10.1016/b978-185617368-1/50001-5.

ZENG, S.; FAN, S.; JIANG, X. [Inhibitory effects of ligustrazine on the expression of intercellular cell adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1 in human umbilical vein endothelial cells induced by preeclamptic plasma]. **Zhonghua fu chan ke za zhi**, China, v. 35, n. 5, p. 282–284, 2000.

ZEPEDA, Ramiro J.; CASTILLO, Rodrigo; RODRIGO, Ramón; PRIETO, Juan C.; ARAMBURU, Ivonne; BRUGERE, Solange; GALDAMES, Katia; NORIEGA, Viviana; MIRANDA, Hugo F. Effect of carvedilol and nebivolol on oxidative stress-related parameters and endothelial function in patients with essential hypertension. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, England, v. 111, n. 5, p. 309–316, 2012. DOI: 10.1111/j.1742-7843.2012.00911.x.

ZHANG, Hanrui; PARK, Yoonjung; WU, Junxi; CHEN, Xiu ping; LEE, Sewon; YANG, Jiyeon; DELLSPERGER, Kevin C.; ZHANG, Cuihua. Role of TNF-alpha in vascular dysfunction. **Clinical science (London, England : 1979)**, England, v. 116, n. 3, p. 219–230, 2009. DOI: 10.1042/CS20080196.

ZHAO, Yingzi; VANHOUTTE, Paul M.; LEUNG, Susan W. S. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. **Journal of pharmacological sciences**, Japan, v. 129, n. 2, p. 83–94, 2015. DOI: 10.1016/j.jphs.2015.09.002.

ZICHE, M.; MORBIDELLI, L.; MASINI, E.; AMERINI, S.; GRANGER, H. J.; MAGGI, C. A.; GEPPETTI, P.; LEDDA, F. Nitric oxide mediates angiogenesis in vivo and endothelial cell growth and migration in vitro promoted by substance P. **The Journal of clinical investigation**, United States, v. 94, n. 5, p. 2036–2044, 1994. DOI: 10.1172/JCI117557.