

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 05/09/2024.

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

MARIANA BERTOZZI MATHEUS

**Avaliação da ação da EGCG, composto do chá-verde, sobre a função
endotelial em modelo *in vitro* de Pré-Eclâmpsia**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Botucatu

2023

MARIANA BERTOZZI MATHEUS

**Avaliação da ação da EGCG, composto do chá-verde, sobre a função
endotelial em modelo *in vitro* de Pré-Eclâmpsia**

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

Orientadora: Prof. Dra. Valéria Cristina
Sandrim

Botucatu

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

Matheus, Mariana Bertozzi.

Avaliação da ação da EGCG, composto do chá-verde, sobre a função endotelial em modelo *in vitro* de pré-eclâmpsia / Mariana Bertozzi Matheus. - Botucatu, 2023

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

Orientador: Valéria Cristina Sandrim

Capes: 21001006

1. Antioxidantes. 2. Endotélio. 3. Pré-eclâmpsia. 4. Chá.

Palavras-chave: Capacidade antioxidante; Disfunção endotelial; EGCG; NO; Pré-eclâmpsia.

MARIANA BERTOZZI MATHEUS

**Avaliação da ação da EGCG, composto do chá-verde, sobre a função
endotelial em modelo in vitro de Pré-Eclâmpsia**

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Valéria Cristina Sandrim

Departamento de Biofísica e Farmacologia

Instituto de Biociências de Botucatu (IBB/UNESP)

Presidente e Orientadora

Prof. Dr, Carlos Alan Candido Dias Junior

Departamento de Biofísica e Farmacologia

Instituto de Biociências de Botucatu (IBB/UNESP)

Membro Titular

Profa. Dra. Camila Renata Corrêa Camacho

Departamento de Patologia

Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/UNESP)

Membro Titular

Este trabalho foi financiado por:



Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). N° processo: 133901/2021-1; 308504/2021-6



Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). N° processo: 2019/26642-5; 2019/06851-9; 2021/12010-7

Dedico esse trabalho aqueles que me dão
força e que me permitiram chegar até aqui.
Pai, mãe e irmã, tudo só foi possível graças
a vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar sempre, aos meus pais: Ana Maria e Aguinaldo, aqueles que mais investiram no meu futuro e estudos. Sei que tudo que eu sou hoje é graças a vocês. Obrigada por todo apoio financeiro e emocional que me deram, nunca conseguirei retribuir tudo que fizeram por mim.

À Maria Paula, minha irmã mais nova e confidente. A Ma te ama e mal sabe explicar o quanto suas palhaçadas foram essenciais para me manter em pé.

Aos meus avós, Helena e Laudelino. Desde que me mudei para Botucatu conto os dias para os finais de semana que volto para Ourinhos pra almoçarmos juntos. Vocês tiveram um papel crucial na minha educação, sempre me senti muito amada no lar de vocês.

Ao restante da minha família perfeita da sua maneira imperfeita.

Ao meu amado Caíto que desde 2019 está enxugando minhas lágrimas e me lembrando o quanto eu sou capaz. Com você nunca me sinto sozinha. Obrigada por tudo, obrigada por ser você.

À equipe Mirante das Artes, meu refúgio aqui em Botucatu. Comecei a frequentar o espaço pra cuidar do meu corpo e acabei encontrando um lugar que cuidasse na minha mente. Conheci e me aproximei de pessoas com um coração lindo. Lá me sinto bem e acolhida. Aqui, quero deixar um agradecimento especial à Barbara Sardela, minha dupla de treino, rolê, desabafos e choros. Você foi essencial pra deixar tudo mais leve.

Aos meus amigos e, principalmente, à Thainá. Você esteve comigo durante a graduação, TCC, iniciação científica e agora iremos finalizar mais essa etapa juntas, como tudo que sempre fizemos desde que nos encontramos. Te ter como amiga, colega de trabalho e roommate foi/é uma honra.

À Priscila Rezeck, pós-doc, professora e confidente nas horas vagas e à toda a minha equipe de trabalho do Sandrim's Lab.

À minha orientadora Profa Dra Valéria Cristina Sandrim por sempre buscar o melhor de mim e permitir a realização dessa pesquisa com todo apoio necessário.

Ao Instituto de Biociências de Botucatu (IBB/UNESP) e ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia, todos os professores e funcionários que me auxiliaram nesse período.

PREFÁCIO

A dissertação aqui apresentada, intitulada: “Avaliação da ação da EGCG, composto do chá-verde, sobre a função vascular em modelo *in vitro* de Pré-Eclâmpsia” está dividida em 3 partes:

Primeiro, será apresentada uma introdução que aborda as principais informações sobre a Pré-Eclâmpsia: suas características, fisiopatologia, dados epidemiológicos e tratamento, assim como informações sobre a disfunção endotelial e a utilização de polifenóis nesse contexto. Detalharemos, também, a importância do modelo *in vitro* da doença e da aplicação do *shear stress* em nosso trabalho.

Já na segunda parte, o artigo “*EGCG, a green tea compound, increases NO production and has antioxidant action in a static and shear stress in vitro model of preeclampsia.*”, que mostra os potenciais efeitos da EGCG sobre a produção de Óxido Nítrico (NO) e seu potencial antioxidante em um modelo *in vitro* de células estáticas e submetidas ao *shear stress* será apresentado.

Por fim, a terceira parte contém uma discussão sobre o artigo e os dados apresentados, as limitações sobre o nosso estudo e uma conclusão sobre o tema abordado.

Apresento, também, as atividades realizadas durante o período de mestrado que vão além da bancada. Foram disciplinas, cursos e eventos que contribuíram significativamente para minha formação e aprimoramento acadêmico. Essas atividades estão listadas ao final da dissertação.

LISTA DE ABREVIATURAS

EC – Célula Endotelial

EGCG – Epigallocatequina-3-galato

EROS – Espécies Reativas de Oxigênio

FRAP – Potencial Antioxidante de Redução do Ferro (do inglês: Ferric Reducing Antioxidant Power)

GS – Gestante Saudável

L-NAME - N ω -nitro-L-arginina-metil éster

MDA - Malondialdeído

NO – Óxido Nítrico

O₂•- - Superóxido

P3IK- Fosfatidilinositol-3-quinase

PE – Pré-Eclâmpsia

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Níveis de NO intracelular em células endoteliais incubadas com o plasma de GS e PE e na presença ou ausência da EGCG e de inibidores da NOS (L-NAME) e da proteína PI3K (LY294002).

Figura 2: Níveis de EROS e $O_2^{\bullet-}$ intracelular em células endoteliais incubadas com o plasma de GS e PE e na presença ou ausência da EGCG.

Figura 3: Capacidade antioxidante e níveis MDA no sobrenadante de células endoteliais incubadas com o plasma de GS e PE e na presença ou ausência da EGCG e de inibidores da NOS (L-NAME) e da proteína PI3K (LY294002).

Figura 4: Níveis de Nitrito, capacidade antioxidante e níveis de MDA no sobrenadante de células endoteliais submetidas ao *shear stress*, incubadas com o plasma de PE na presença ou ausência da EGCG.

Figura 5: Esquema dos mecanismos de ação da EGCG discutidos no artigo.

RESUMO

A Pré-Eclâmpsia (PE) é uma doença hipertensiva gestacional caracterizada por importante estresse oxidativo e disfunção endotelial. A PE não tem cura e a busca por tratamentos e prevenção da doença se mostra de grande importância. Os polifenóis, de importante ação antioxidante e vasodilatadora, são substâncias amplamente encontrados em alimentos e bebidas de origem natural. Dentre eles podemos citar a EGCG, composto do chá-verde, pouco investigado no contexto da PE. Dessa forma, o objetivo desse estudo é investigar os efeitos da EGCG na função endotelial *in vitro* e avaliar os potenciais benefícios desse tratamento e suas implicações na PE. Considerando a importância do endotélio e a liberação de fatores prejudiciais na circulação materna, células endoteliais foram incubadas com o plasma de gestante saudável (GS) e PE para avaliação dos efeitos dessas amostras sobre as células. Para aproximar nosso modelo do organismo materno, as células também foram submetidas a uma metodologia que mimetiza a força de cisalhamento do sangue (*shear stress*) sobre o endotélio. Depois, células do grupo PE foram incubadas com a EGCG para avaliação dos níveis de NO, EROS e O₂•-, capacidade antioxidante e níveis de MDA. Inibidores da principal via de ação da EGCG, a via PI3K/AKT/eNOS também foram utilizados: L-NAME para inibição da NOS e LY294002 para inibição da proteína PI3K. Nossos resultados apontam que a EGCG recupera os níveis de NO diminuídos no grupo PE. A ação do polifenol é diminuída nos grupos incubados com L-NAME e LY294002, indicando que o aumento de NO pelo fitoquímico se dá pela ativação da via PI3K/Akt/eNOS. Os níveis de EROS são menores no grupo PE quando comparados ao grupo GS e de O₂•- similares entre os grupos, enquanto a EGCG não altera esses níveis. Entretanto, o tratamento aumenta a capacidade antioxidante no grupo PE, enquanto atenua os níveis de MDA no mesmo grupo, ações diminuídas com o uso de LY294002. No sobrenadante de células expostas ao *shear stress*, a EGCG aumentou os níveis de nitrito, assim como a capacidade antioxidante e também diminuiu os níveis de MDA, ou seja, sua ação foi mantida nesse modelo experimental. Sugerimos, portanto, que a EGCG atua na função endotelial, sendo um importante alvo terapêutico para a PE.

Palavras-chave: Pré-Eclâmpsia; disfunção endotelial; NO; estresse oxidativo; capacidade antioxidante; EGCG; polifenóis; shear stress; chá-verde

ABSTRACT

Preeclampsia (PE) is a gestacional disease characterized by important oxidative stress and endothelial dysfunction. PE has no cure, and the search for treatment and prevention of the disease are extremely important. In green tea we can find EGCG, a polyphenol with antioxidant and vasodilator properties well described in the context of cardiovascular diseases. However, investigations of these effects on PE are scarce. Therefore, the objective of this study is to investigate the effects of EGCG on endothelial function *in vitro* in order to evaluate the potential benefits of this treatment and its implications in PE. Considering the importance of the endothelium and the release of harmful factors in the maternal circulation, endothelial cells were incubated with plasma from healthy (HP) and PE pregnant women to evaluate the effects of these samples on the cells. Subsequently, cells from the PE group were incubated with EGCG to evaluate the levels of NO, ROS, and O₂•⁻, antioxidant capacity, and MDA levels. Inhibitors of the main EGCG action pathway, the PI3K/AKT/eNOS pathway, were also used: L-NAME for NOS inhibition and LY294002 for PI3K inhibition. To approximate our model to the maternal organism, the cells were also subjected to a methodology that mimics the shear stress on the endothelium. Our results indicate that EGCG recovering NO levels decreased in the PE group and the polyphenol action is reduced in groups incubated with L-NAME and LY294002, indicating that the increase in NO by the phytochemical is due to the activation of the PI3K/Akt/eNOS pathway. The ROS levels are lower in the PE group when compared to the HP group and the O₂•⁻ levels are similar between them, while the EGCG does not change these levels. However, the treatment increases the antioxidant capacity in the PE group, while attenuating MDA levels in the same group, actions decreased with the LY294002 inhibitor. In the supernatant of cells exposed to shear stress, EGCG increased nitrite levels, as well as antioxidant capacity, and also decreased MDA levels, meaning that its action was maintained in this experimental model. Therefore, we suggest that EGCG acts on endothelial function, being an important therapeutic target for PE

Keywords: preeclampsia; endothelial dysfunction; NO; oxidative stress; antioxidant capacity; EGCG; polyphenols; green tea

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	14
1. Pré-Eclâmpsia: características e fisiopatologia.....	14
2. Disfunção endotelial.....	15
3. Prevenção e tratamento.....	17
4. Chá-verde e seus benefícios	18
5. Modelo <i>in vitro</i>	19
ARTIGO: “EGCG, a green tea compound, increases NO production and has antioxidant action in a static and shear stress in vitro model of preeclampsia..”.....	22
DISCUSSÃO.....	45
CONCLUSÃO.....	48
CRÉDITO E DISCIPLINAS.....	48
REFERÊNCIAS	50

INTRODUÇÃO

1. Pré-Eclâmpsia: características e fisiopatologia

As doenças hipertensivas gestacionais estão entre as principais causas de complicações na gestação e morte materna no mundo (Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222, 2020). Dentre elas, podemos citar a Pré-Eclâmpsia (PE), que atinge entre 2-8% das gestantes, com uma maior prevalência em regiões subdesenvolvidas (“Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222”, 2020; GIORDANO et al., 2014). Caracterizada pelo aumento da pressão arterial e disfunção de órgãos alvo, a PE ainda pode limitar o crescimento fetal e causar abortamentos ou partos prematuros, além de estar relacionada com o aumento do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares no futuro dessa gestante (BARROSO et al., 2021; SIDDIQUI; HLADUNEWICH, 2011)

Durante a gestação, o organismo materno é submetido a diversas mudanças e adaptações, inclusive no sistema vascular. No útero, por exemplo, as células do citotrofoblasto invadem as artérias espiraladas para que elas se tornem mais calibrosas e o fluxo sanguíneo para a placenta aumente (BROSENS; ROBERTSON; DIXON, 1967; RANA et al., 2019). Essa invasão e remodelamento são profundos, atingindo as artérias até a altura do miométrio (BROSENS; ROBERTSON; DIXON, 1967; RANA et al., 2019). Entretanto, na PE, essa transformação das células do citotrofoblasto do subtipo “proliferativo” para o “invasivo” é diminuída, resultando na deficiência da invasão citotrofoblástica (RANA et al., 2019). Dessa forma, há uma falha no remodelamento das artérias espiraladas e seu calibre não é aumentado, o que limita o fluxo sanguíneo para a placenta e leva ao desenvolvimento de uma isquemia placentária (ROBERTS et al., 1989; ROBERTS; GAMMILL, 2005).

Essa isquemia placentária é um ponto-chave no desenvolvimento da PE (ROBERTS et al., 1989; ROBERTS; GAMMILL, 2005; OLIVEIRA; KARUMANCHI; SASS, 2010). Em uma gestação normal é comum que haja baixas tensões de oxigênio, seguidas de oxigenação provenientes do fluxo sanguíneo materno (CHIARELLO et al., 2020). Esse processo favorece a alteração do citotrofoblasto do subtipo proliferativo para o invasivo e, conseqüentemente, a placentação normal (RANA et al., 2019). Entretanto, em gestantes com PE, o que observamos é uma constante hipóxia seguida de reoxigenação causada pela isquemia, que favorece, então, o estresse oxidativo e a liberação de fatores inflamatórios, vasoativos e antiangiogênicos na circulação materna (OLIVEIRA; KARUMANCHI; SASS, 2010; SANDRIM et al., 2008; TAYLOR et al., 1998).

São esses fatores responsáveis pelo desenvolvimento da chamada “síndrome materna” que consiste nos sintomas característicos da doença, como a hipertensão, a proteinúria, a disfunção hepática, o edema pulmonar e problemas neuronais (ROBERTS et al., 1989; ROBERTS; GAMMILL, 2005). Em casos mais graves, a PE ainda pode evoluir para um quadro de Eclâmpsia, caracterizada por convulsões e coma; ou síndrome de HELLP, com hemólise, disfunção renal e baixa contagem de plaquetas (“Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222”, 2020; PERAÇOLI et al., 2019).

2. Disfunção endotelial

A disfunção endotelial juntamente com a liberação desses fatores na circulação materna, também contribui significativamente para o desenvolvimento da PE e da síndrome materna (POSSOMATO-VIEIRA; KHALIL, 2016; TUZCU et al., 2015). São característica da disfunção endotelial a vasoconstrição, o ambiente pró-inflamatório, o favorecimento da adesão celular, entre outros (GALLO; VOLPE; SAVOIA, 2022;

CONCLUSÃO

Concluimos, portanto, que a EGCG aumenta os níveis de NO através da ativação da via PI3K/AKT/eNOS, além de favorecer a atividade antioxidante e reduzir a peroxidação lipídica em células incubadas com plasma PE. Esses efeitos benéficos também são observados em células expostas ao estresse de cisalhamento. Sugerimos, portanto, que a EGCG atua na função endotelial, sendo um importante alvo terapêutico para a pré-eclâmpsia.

CRÉDITOS E DISCIPLINAS

1. Disciplinas Cursadas

Disciplina	Conceito	Frequência	Créditos	Carga Horária
Bases e Atualizações em Farmacologia e Biotecnologia	A	100%	3	45
Exploração alternativa de carreiras na ciência	A	100%	1	15
Bases e Atualizações em Farmacologia e Biotecnologia	A	100%	3	45
Conceitos gerais em Estatística aplicada a modelos biológicos	B	100%	2	30
Farmacologia do Endotélio Vascular	A	100%	4	60
Pré-eclâmpsia: da bancada ao leito	A	100%	4	60
Cultura Celular Animal	A	97,8%	3	45

2. Artigos Publicados

Bertozi-Matheus M, Bueno-Pereira TO, Viana-Mattioli S, Carlström M, Cavalli RC, Sandrim VC. Different profiles of circulating arginase 2 in subtypes of preeclampsia pregnant women. Clin Biochem. 2021 Jun;92:25-33. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2021.03.002. Epub 2021 Mar 11. PMID: 33713637.

Bueno-Pereira TO, **Bertozi-Matheus M**, Zampieri GM, Abbade JF, Cavalli RC, Nunes PR, Sandrim VC. Markers of Endothelial Dysfunction Are Attenuated by Resveratrol in Preeclampsia. Antioxidants (Basel). 2022 Oct 26;11(11):2111. doi: 10.3390/antiox11112111. PMID: 36358483; PMCID: PMC9686533.

Bueno-Pereira TO, Nunes PR, **Matheus MB**, Vieira da Rocha AL, Sandrim VC. Nebivolol Increases Nitric Oxide Synthase via β_3 Adrenergic Receptor in Endothelial Cells Following Exposure to Plasma from Preeclamptic Patients. Cells. 2022 Mar 4;11(5):883. doi: 10.3390/cells11050883. PMID: 35269505; PMCID: PMC8909669.

3. Eventos científicos

X Simpósio de Farmacologia e Biotecnologia da UNESP, 2021

Encontro Nacional de Biomedicina (ENBM), 2021

XI Simpósio de Farmacologia e Biotecnologia da UNESP, 2022

XXVII Simpósio de Brasileiro de Fisiologia Cardiovascular, 2023

4. Resumos em eventos

PR, Nunes; TO, Bueno-Pereira; **MB, Matheus**; ALV. Rocha; V. Sandrim.
Glibenclamide increases nitric oxide production in huvec cultured with plasma
from pregnant women with preeclampsia, 2022

Bueno-Pereira TO; **Bertozzi-Matheus M**; Nunes PR; Rocha ALV; Sansrim VC.
Nebivolol mitigates endothelial dysfunction in a model of preeclampsia, 2022

Bertozzi-Matheus M; Bueno-Pereira TO; Nunes PR; Rocha ALV; Sandrim VC.
EGCG, composto do chá-verde, aumenta a produção de Óxido Nítrico e a
resposta antioxidante em modelo *in vitro* de Pré-Eclâmpsia, 2023

5. Cursos

Curso Farmacogenética/Farmacogenômica da Sociedade Brasileira de
Farmacologia e Terapêutica Experimental (SBFTE), 2021

REFERÊNCIAS

- ACAUAN FILHO, B. J. et al. Serum nitrate and NOx levels in preeclampsia are higher than in normal pregnancy. **Hypertension in Pregnancy**, v. 35, n. 2, p. 226–233, 2 abr. 2016.
- BACHETTI, T.; MORBIDELLI, L. Endothelial cells in culture: A model for studying vascular functions. **Pharmacological Research**, 2000.
- BAKER, P. N. et al. Mechanical stress eliminates the effects of plasma from patients with preeclampsia on endothelial cells. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 174, n. 2, p. 730–736, fev. 1996.
- BARROSO, W. K. S. et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, n. 3, p. 516–658, 3 mar. 2021.

- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–76, jul. 1996.
- BERNARDI, F. et al. Plasma nitric oxide, endothelin-1, arginase and superoxide dismutase in pre-eclamptic women. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, 2008.
- BIRD, R. P.; DRAPER, H. H. [35] Comparative studies on different methods of malonaldehyde determination. Em: [s.l: s.n.]. p. 299–305.
- BROSENS, I.; ROBERTSON, W. B.; DIXON, H. G. The physiological response of the vessels of the placental bed to normal pregnancy. **The Journal of Pathology and Bacteriology**, v. 93, n. 2, p. 569–579, abr. 1967.
- BROWN, M. A. et al. **Hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis, and management recommendations for international practice. Hypertension**, 2018.
- BUENO-PEREIRA, T. O. et al. Markers of Endothelial Dysfunction Are Attenuated by Resveratrol in Preeclampsia. **Antioxidants**, v. 11, n. 11, p. 2111, 26 out. 2022.
- CALDEIRA-DIAS, M. et al. Preeclamptic plasma stimulates the expression of miRNAs, leading to a decrease in endothelin-1 production in endothelial cells. **Pregnancy Hypertension**, 2018.
- CALDEIRA-DIAS, M. et al. Resveratrol improves endothelial cell markers impaired by plasma incubation from women who subsequently develop preeclampsia. **Hypertension Research**, 2019.
- CHIARELLO, D. I. et al. Oxidative stress: Normal pregnancy versus preeclampsia. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1866, n. 2, p. 165354, fev. 2020.
- CROW, J. P. Dichlorodihydrofluorescein and Dihydrorhodamine 123 Are Sensitive Indicators of Peroxynitrite in Vitro: Implications for Intracellular Measurement of Reactive Nitrogen and Oxygen Species. **Nitric Oxide**, v. 1, n. 2, p. 145–157, abr. 1997.
- DAIBER, A. et al. **New therapeutic implications of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) function/dysfunction in cardiovascular disease. International Journal of Molecular Sciences**, 2019.
- DELA PAZ, N. G. et al. Role of shear-stress-induced VEGF expression in endothelial cell survival. **Journal of Cell Science**, v. 125, n. 4, p. 831–843, 15 fev. 2012.
- DIEDRICH, F. et al. Lipid hydroperoxides and free radical scavenging enzyme activities in preeclampsia and HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count) syndrome: No evidence for circulating primary products of lipid peroxidation. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 185, n. 1, p. 166–172, jul. 2001.

EGERMAN, R. S. et al. Neuropeptide Y and nitrite levels in preeclamptic and normotensive gravid women. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 181, n. 4, p. 921–923, out. 1999.

FÖRSTERMANN, U.; LI, H. **Therapeutic effect of enhancing endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression and preventing eNOS uncoupling**. **British Journal of Pharmacology**, 2011.

GALLO, G.; VOLPE, M.; SAVOIA, C. Endothelial Dysfunction in Hypertension: Current Concepts and Clinical Implications. **Frontiers in Medicine**, v. 8, 20 jan. 2022.

GAO, X. et al. The Efficacy Mechanism of Epigallocatechin Gallate against Pre-Eclampsia based on Network Pharmacology and Molecular Docking. **Reproductive Sciences**, v. 29, n. 6, p. 1859–1873, 24 jun. 2022.

Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. **Obstetrics and gynecology**, 2020.

GIORDANO, J. C. et al. The Burden of Eclampsia: Results from a Multicenter Study on Surveillance of Severe Maternal Morbidity in Brazil. **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, p. e97401, 13 maio 2014.

GOMES, A. M. et al. Wortmannin targeting phosphatidylinositol 3-kinase suppresses angiogenic factors in shear-stressed endothelial cells. **Journal of Cellular Physiology**, v. 235, n. 6, p. 5256–5269, 19 jun. 2020.

GOMES, H. F. et al. Assessment of oxidative status markers and NO bioavailability in hypertensive disorders of pregnancy. **Journal of Human Hypertension**, v. 27, n. 6, p. 345–348, 10 jun. 2013.

GUPTA, S. et al. Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Preeclampsia. **Obstetrical & Gynecological Survey**, v. 64, n. 11, p. 750–759, nov. 2009.

HADI, H. A. R.; CARR, C. S.; AL SUWAIDI, J. Endothelial dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome. **Vascular health and risk management**, v. 1, n. 3, p. 183–98, 2005.

HAYAT, K. et al. Tea and Its Consumption: Benefits and Risks. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 7, p. 939–954, 7 jun. 2015.

HUBEL, C. A. et al. Lipid peroxidation in pregnancy: New perspectives on preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 161, n. 4, p. 1025–1034, out. 1989.

JOHAL, T. et al. The nitric oxide pathway and possible therapeutic options in pre-eclampsia. **British Journal of Clinical Pharmacology**, 2014.

KALYANARAMAN, B. et al. **Measuring reactive oxygen and nitrogen species with fluorescent probes: Challenges and limitations**. **Free Radical Biology and Medicine** Elsevier Inc., , 1 jan. 2012.

KIM, J. A. et al. Epigallocatechin gallate, a green tea polyphenol, mediates NO-dependent vasodilation using signaling pathways in vascular endothelium requiring reactive oxygen species and fyn. **Journal of Biological Chemistry**, 2007.

KOJIMA, H. et al. Development of a Fluorescent Indicator for Nitric Oxide Based on the Fluorescein Chromophore. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 46, n. 2, p. 373–375, 1998.

KUBLICKIENE, K. R. et al. Preeclampsia: Evidence for impaired shear stress-mediated nitric oxide release in uterine circulation. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 183, n. 1, p. 160–166, jul. 2000.

KUKOR, Z.; VALENT, S.; TÓTH, M. Regulation of nitric oxide synthase activity by tetrahydrobiopterin in human placentae from normal and pre-eclamptic pregnancies. **Placenta**, 2000.

LAURINDO, F. R. M.; FERNANDES, D. C.; SANTOS, C. X. C. Assessment of Superoxide Production and NADPH Oxidase Activity by HPLC Analysis of Dihydroethidium Oxidation Products. Em: [s.l.: s.n.]. p. 237–260.

LIU, S. et al. EGCG protects against homocysteine-induced human umbilical vein endothelial cells apoptosis by modulating mitochondrial-dependent apoptotic signaling and PI3K/Akt/eNOS signaling pathways. **Apoptosis**, 2017.

LORENZ, M. et al. A Constituent of Green Tea, Epigallocatechin-3-gallate, Activates Endothelial Nitric Oxide Synthase by a Phosphatidylinositol-3-OH-kinase-, cAMP-dependent Protein Kinase-, and Akt-dependent Pathway and Leads to Endothelial-dependent Vasorelaxation. **Journal of Biological Chemistry**, 2004.

LORENZ, M. et al. Endothelial NO Production Is Mandatory for Epigallocatechin-3-Gallate-induced Vasodilation: Results from eNOS Knockout (eNOS^{-/-}) Mice. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, 2015.

LOWE, D. T. Nitric oxide dysfunction in the pathophysiology of preeclampsia. **Nitric Oxide - Biology and Chemistry**, 2000.

MITCHELL, B. M. et al. Uncoupled Endothelial Nitric Oxide Synthase and Oxidative Stress in a Rat Model of Pregnancy-Induced Hypertension. **American Journal of Hypertension**, 2007.

MUSSATTO, S. I. Generating Biomedical Polyphenolic Compounds from Spent Coffee or Silverskin. Em: **Coffee in Health and Disease Prevention**. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 93–106.

NEGRE-SALVAYRE, A. et al. Oxidative stress, lipid peroxidation and premature placental senescence in preeclampsia. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 730, p. 109416, nov. 2022.

NOORBAKHS, M.; KIANPOUR, M.; NEMATBAKHS, M. Serum Levels of Asymmetric Dimethylarginine, Vascular Endothelial Growth Factor, and Nitric Oxide Metabolite Levels in Preeclampsia Patients. **ISRN Obstetrics and Gynecology**, v. 2013, p. 1–5, 11 set. 2013.

OLIVEIRA, L. G. DE; KARUMANCHI, A.; SASS, N. Pré-eclâmpsia: estresse oxidativo, inflamação e disfunção endotelial. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 32, n. 12, p. 609–616, dez. 2010.

OSOL, G.; KO, N. L.; MANDALÀ, M. Altered Endothelial Nitric Oxide Signaling as a Paradigm for Maternal Vascular Maladaptation in Preeclampsia. **Current Hypertension Reports**, v. 19, n. 10, p. 82, 23 out. 2017.

PERAÇOLI, J. C. et al. Pre-eclampsia/Eclampsia. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, 2019.

POSSOMATO-VIEIRA, J. S.; KHALIL, R. A. Mechanisms of Endothelial Dysfunction in Hypertensive Pregnancy and Preeclampsia. Em: **Advances in Pharmacology**. [s.l.: s.n.].

POTJE, S. R. et al. Nitric oxide donor [Ru(terpy)(bdq)NO]³⁺ induces uncoupling and phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase promoting oxidant production. **Free Radical Biology and Medicine**, 2017.

RANA, S. et al. Preeclampsia: Pathophysiology, Challenges, and Perspectives. **Circulation Research**, 2019.

REGAN, C. L. et al. No evidence for lipid peroxidation in severe preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 185, n. 3, p. 572–578, set. 2001.

REITER, C. E. N.; KIM, J. A.; QUON, M. J. Green tea polyphenol epigallocatechin gallate reduces endothelin-1 expression and secretion in vascular endothelial cells: Roles for AMP-activated protein kinase, Akt, and FOXO1. **Endocrinology**, 2010.

ROBERTS, J. M. et al. Preeclampsia: An endothelial cell disorder. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, 1989.

ROBERTS, J. M.; GAMMILL, H. S. **Preeclampsia: Recent insights. Hypertension**, 2005.

ROCHA-PENHA, L. et al. Myeloperoxidase in Hypertensive Disorders of Pregnancy and Its Relation with Nitric Oxide. **Hypertension**, 2017.

ROCHETTE, L. et al. **Nitric oxide synthase inhibition and oxidative stress in cardiovascular diseases: Possible therapeutic targets? Pharmacology and Therapeutics**, 2013.

ROWE, J.; CAMPBELL, S.; GALLERY, E. D. M. Nitric Oxide Production by Decidual Endothelial Cells is not Reduced in Preeclampsia. **Hypertension in Pregnancy**, v. 22, n. 1, p. 63–75, 7 jan. 2003.

RYTLEWSKI, K. et al. Effects of prolonged oral supplementation with L-arginine on blood pressure and nitric oxide synthesis in preeclampsia. **European Journal of Clinical Investigation**, 2005.

SANDRIM, V. C. et al. Nitric oxide formation is inversely related to serum levels of antiangiogenic factors soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endogline in preeclampsia. **Hypertension**, 2008.

SANKARALINGAM, S.; XU, H.; DAVIDGE, S. T. Arginase contributes to endothelial cell oxidative stress in response to plasma from women with preeclampsia. **Cardiovascular Research**, 2010.

SEBASTIANI, G. et al. Effects of Antioxidant Intake on Fetal Development and Maternal/Neonatal Health during Pregnancy. **Antioxidants**, v. 11, n. 4, p. 648, 28 mar. 2022.

SELIGMAN, S. P. et al. The role of nitric oxide in the pathogenesis of preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, 1994.

SHI, D. D. et al. Epigallocatechin gallate enhances treatment efficacy of oral nifedipine against pregnancy-induced severe pre-eclampsia: A double-blind, randomized and placebo-controlled clinical study. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, 2018.

SIDDIQUI, N.; HLADUNEWICH, M. **Understanding the Link Between the Placenta and Future Cardiovascular Disease**. **Trends in Cardiovascular Medicine**, 2011.

SINKEY, R. G. et al. Prevention, Diagnosis, and Management of Hypertensive Disorders of Pregnancy: a Comparison of International Guidelines. **Current Hypertension Reports**, v. 22, n. 9, p. 66, 27 set. 2020.

STAFF, A. C. **The two-stage placental model of preeclampsia: An update**. **Journal of Reproductive Immunology**, 2019.

SUGANYA, N. et al. Reversibility of endothelial dysfunction in diabetes: Role of polyphenols. **British Journal of Nutrition**, 2016.

SUTTON, E. F.; GEMMEL, M.; POWERS, R. W. **Nitric oxide signaling in pregnancy and preeclampsia**. **Nitric Oxide - Biology and Chemistry**, 2020.

TANG, W. J. et al. Epigallocatechin gallate preserves endothelial function by reducing the endogenous nitric oxide synthase inhibitor level. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, 2006.

TAYLOR, R. et al. Circulating Factors as Markers and Mediators of Endothelial Cell Dysfunction in Preeclampsia. **Seminars in Reproductive Medicine**, v. 16, n. 01, p. 17–31, 15 mar. 1998.

TAYSI, S. et al. Radicals, Oxidative/Nitrosative Stress and Preeclampsia. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 3, p. 178–193, 11 jan. 2019.

TURBEVILLE, H. R.; SASSER, J. M. Preeclampsia beyond pregnancy: long-term consequences for mother and child. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 318, n. 6, p. F1315–F1326, 1 jun. 2020.

TUZCU, Z. B. et al. **Circulating endothelial cell number and markers of endothelial dysfunction in previously preeclamptic women**. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**. **Anais...**2015.

UKAH, U. V. et al. **Prediction of adverse maternal outcomes from pre-eclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy: A systematic review.** *Pregnancy Hypertension*, 2018.

VIANA-MATTIOLI, S. et al. SIRT1-dependent effects of resveratrol and grape juice in an in vitro model of preeclampsia. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, 2020.

VIANA-MATTIOLI, S. et al. Missing links in preeclampsia cell model systems of endothelial dysfunction. **Trends in Molecular Medicine**, v. 29, n. 7, p. 541–553, jul. 2023.

XIA, Y. et al. Nitric oxide synthase generates Superoxide and nitric oxide in arginine-depleted cells leading to peroxynitrite-mediated cellular injury. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 1996.

YAMAGATA, K. et al. Epigallocatechin-3-gallate inhibits VCAM-1 expression and apoptosis induction associated with LC3 expressions in TNF α -stimulated human endothelial cells. **Phytomedicine**, 2015.

YAMAGATA, K. Polyphenols Regulate Endothelial Functions and Reduce the Risk of Cardiovascular Disease. **Current Pharmaceutical Design**, 2019.

YAMAGATA, K. **Protective Effect of Epigallocatechin Gallate on Endothelial Disorders in Atherosclerosis.** *Journal of cardiovascular pharmacology*, 2020.

YAMAGATA, K.; TAGAMI, M.; YAMORI, Y. **Dietary polyphenols regulate endothelial function and prevent cardiovascular disease.** *Nutrition*, 2015.

ZHANG, Z.; ZHANG, D. (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits eNOS uncoupling and alleviates high glucose-induced dysfunction and apoptosis of human umbilical vein endothelial cells by PI3K/AKT/eNOS pathway. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, 2020.

ZHAO, T. et al. Green Tea (*Camellia sinensis*): A Review of Its Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology. **Molecules**, v. 27, n. 12, p. 3909, 18 jun. 2022.

ZHONG, M. et al. Epigallocatechin gallate (EGCG) improves anti-angiogenic state, cell viability, and hypoxia-induced endothelial dysfunction by downregulating high mobility group Box 1 (HMGB1) in preeclampsia. **Medical Science Monitor**, 2020.