



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

HAROLDO MILLET NEVES

**Efeito modulador do sulfato de magnésio sobre a
resposta inflamatória sistêmica em gestantes portadoras
de iminência de eclâmpsia ou de eclâmpsia**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade de Medicina de Botucatu-Unesp para obtenção do título de doutor em Tocoginecologia.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Peraçoli

Co-orientadora: Dra. Mariana Romão Veiga

Botucatu – SP

2021

HAROLDO MILLET NEVES

**Efeito modulador do sulfato de magnésio sobre a resposta
inflamatória sistêmica em gestantes portadoras de
iminência de eclâmpsia ou de eclâmpsia**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade de Medicina de Botucatu-Unesp para obtenção do título de doutor em Tocoginecologia.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Peraçoli

Co-orientadora: Dra. Mariana Romão Veiga

Botucatu – SP

2021

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

Neves, Haroldo Millet.

Efeito modulador do sulfato de magnésio sobre a resposta inflamatória sistêmica em gestantes portadoras de iminência de eclâmpsia ou de eclâmpsia / Haroldo Millet Neves. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: José Carlos Peraçoli
Coorientador: Mariana Romão-Veiga
Capes: 40101150

1. Gestação. 2. Sulfato de magnésio. 3. Eclâmpsia.
4. Pré-eclâmpsia. 5. Citocinas. 6. Inflamação.

Palavras-chave: Citocinas inflamatórias; Eclâmpsia;
Gestação; Pré-eclâmpsia; Sulfato de magnésio.

DEDICATÓRIA

A minha esposa, minha doce EVA, que alegra todos os meus dias, sendo totalmente cúmplice em tudo que faço.

Aos meus filhos amados, Luciana, André e Miguel por suas vidas íntegras.

Aos meus queridos pais, que já não estão comigo, por me ensinarem o caminho do bem.

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Jeová, que é poderoso para fazer infinitamente mais do que tudo quanto pedimos ou pensamos, conforme o seu poder que opera em nós. A Ele seja a Glória, e Honra, e Majestade na Igreja e em Cristo Jesus, por todas as gerações, para todo o sempre. Amém!

Ao Reverendo Amadeu Aparecido Teixeira, meu pastor, um Santo Homem de Deus, que me ensinou a crer nas Promessas do Senhor.

Ao Professor Doutor José Carlos Peraçoli, que Deus indubitavelmente colocou no meu caminho, para orientar, corrigir e concluir este projeto. Não há como pagar. Tudo o que eu fizer será pouco para retribuir sua ajuda.

A professora Doutora Maria Terezinha Serrão Peraçoli, por quem alimento grande admiração, ao ceder seus conhecimentos no desenvolvimento da Pesquisa .

A Professora Doutora Mariana Romão Veiga, minha Co-orientadora, pelas horas dedicadas nesta obra.

Aos funcionários da Pós-graduação em Ginecologia e Obstetrícia, em especial a Solange Sako Cagliari, que durante todos esses anos, foram gentis e prestativos, sem esperar nada em troca.

Muito obrigado!

Está escrito:

“Porque a Palavra de Deus é viva, e eficaz, e mais cortante do que qualquer espada de dois gumes, e penetra até ao ponto de dividir alma e espírito, juntas e medulas, e é apta para discernir os pensamentos e propósitos do coração. E não há criatura que não seja manifesta na sua presença; pelo contrário, todas as coisas estão descobertas e patentes aos olhos daquele a quem temos de prestar contas.”

Hebreus 4:12-13

RESUMO

Introdução: Os distúrbios hipertensivos da gestação constituem uma das principais causas de mortalidade materna e perinatal em todo o mundo, sendo que a pré-eclâmpsia complica 2 a 8% dessas gestações. No Brasil, a pré-eclâmpsia contribui com um quarto de todos os óbitos maternos registrados. A reação inflamatória sistêmica exacerbada que ocorre na pré-eclâmpsia é caracterizada por produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias como Interleucina-1 (IL-1 β), IL-6 e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e de quimiocinas, bem como deficiência na síntese da citocina anti-inflamatória IL-10, importante fator capaz de regular a resposta inflamatória. Como manifestação clínica, a pré-eclâmpsia pode evoluir para situações críticas, diretamente relacionadas com as altas taxas de morbimortalidade materna e perinatal, que são a crise ou emergência hipertensiva, a síndrome HELLP e a eclâmpsia. A eclâmpsia, definida pela manifestação de crise convulsiva tônico-clônica generalizada, em gestante com pré-eclâmpsia, é considerada uma das mais sérias complicações da doença. Evidências na literatura demonstram que o sulfato de magnésio (MgSO₄) é a medicação de escolha para prevenção e tratamento da eclâmpsia. **Objetivo:** Considerando-se a ação terapêutica do MgSO₄ na prevenção e tratamento da eclâmpsia, o presente avaliou o efeito imunomodulador de diferentes esquemas de sulfato de magnésio administrados por via intravenosa sobre a concentração de citocinas pró- e anti-inflamatórias em gestantes com diagnóstico de iminência de eclâmpsia ou de eclâmpsia. **Sujeitos e métodos:** Foram avaliadas 33 gestantes pré-eclâmpicas, com diagnóstico de iminência de eclâmpsia ou de eclâmpsia, em estudo transversal unicego e alocadas segundo os esquemas de MgSO₄, em dois grupos: esquema de Zuspan (16 gestantes) e esquema de Sibai (17 gestantes). Após a inclusão da paciente no estudo coletou-se amostra de sangue antes da administração da dose inicial de cada esquema de MgSO₄, após 24h e 48h de tratamento, determinando-se as concentrações séricas de Interleucina (IL)-1 beta (IL-1 β), IL-6, IL-10 e fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α). Os resultados foram analisados por testes paramétricos ou não-paramétricos, com nível de significância de 5%. **Resultados:** O tratamento com MgSO₄, segundo o esquema de Zuspan, não alterou as concentrações de TNF- α nos três momentos estudados, enquanto o tratamento com o esquema de Sibai reduziu significativamente esses valores nos momentos 24h e 48h pós-tratamento. Ambos tratamentos reduziram significativamente a concentração de IL-1 β em comparação ao período pré-

tratamento. Houve redução significativa da concentração de IL-6 apenas no período de 48h do esquema de Zuspan, enquanto no esquema de Sibai os valores dessa citocina foram significativamente menores tanto após 24h como 48h. A concentração sérica de IL-10 foi semelhante nos três momentos do tratamento com o esquema de Zuspan, enquanto que com o esquema de Sibai houve aumento da concentração dessa citocina no período de 48h após o tratamento. **Conclusão:** O presente estudo permite concluir que, em gestantes portadoras de iminência de eclâmpsia ou de eclâmpsia, o MgSO₄ administrado segundo o esquema de Sibai determinou efeito modulador precoce sobre a produção de citocinas pró-inflamatórias em relação ao esquema de Zuspan e ativou a produção da citocina anti-inflamatória IL-10, demonstrando seu papel imunoregulador sobre a resposta inflamatória sistêmica presente na pré-eclâmpsia.

Palavras-chave: pré-eclâmpsia, sulfato de magnésio, citocinas, inflamação.

ABSTRACT

Introduction: Hypertensive disorders of pregnancy are one of the main causes of maternal and perinatal mortality worldwide, with pre-eclampsia complicating 2 to 8% of these pregnancies. In Brazil, pre-eclampsia contributes to a quarter of all registered maternal deaths. The exacerbated systemic inflammatory reaction that occurs in preeclampsia is characterized by excessive production of pro-inflammatory cytokines such as Interleukin-1 (IL-1 β), IL-6 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) and chemokines, as well as deficiency in the synthesis of the anti-inflammatory cytokine IL-10, an important factor capable of regulating the inflammatory response. As a clinical manifestation, preeclampsia can evolve into critical situations, directly related to the high rates of maternal and perinatal morbidity and mortality, which are the hypertensive crisis or emergency, HELLP syndrome and eclampsia. Eclampsia is defined by the manifestation of a generalized tonic-clonic seizure crisis in pregnant women with preeclampsia, and is considered one of the most serious complications of the disease. Evidence in the literature shows that magnesium sulfate (MgSO₄) is the medication of choice for the prevention and treatment of eclampsia. **Objective:** Considering the therapeutic action of MgSO₄ in the prevention and treatment of eclampsia, the present study evaluated the immunomodulatory effect of different intravenous magnesium sulfate regimens on the concentration of pro-and anti-inflammatory cytokines in pregnant women diagnosed with imminent eclampsia or eclampsia. **Subjects and methods:** 33 preeclamptic pregnant women were diagnosed with imminent eclampsia or eclampsia, in a single-blind cross-sectional study and allocated according to the MgSO₄ schemes, in two groups: Zuspan scheme (16 pregnant women) and Sibai scheme (17 pregnant women). After the inclusion of the patient in the study, a blood sample was collected before the administration of the initial dose of each MgSO₄ regimen, after 24h and 48h of treatment, determining the serum concentrations of Interleukin (IL)-1 beta (IL-1 β), IL-6, IL-10 and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α). The results were analyzed by parametric or non-parametric tests, with a significance level of 5%. **Results:** The treatment with MgSO₄, according to the Zuspan scheme, did not change the concentrations of TNF- α in the three moments studied, while the treatment with the Sibai scheme significantly reduced these values in the 24h and 48h post-treatment. Both treatments significantly reduced the concentration of IL-1 β compared to the pre-treatment period. There was a significant reduction in the concentration of

IL-6 only in the 48h period of the Zuspan regimen, while in the Sibai regimen the values of this cytokine were significantly lower both after 24h and 48h. The serum concentration of IL-10 was similar at the three moments of treatment with the Zuspan regimen, while with the Sibai regimen there was an increase in the concentration of this cytokine in the 48h period after treatment. **Conclusion:** The present study allows us to conclude that, in pregnant women with imminent eclampsia or eclampsia, MgSO₄ administered according to the Sibai scheme determined an early modulatory effect on the production of pro-inflammatory cytokines compared to the Zuspan scheme, and it activated the production of the anti-inflammatory cytokine IL-10, demonstrating its immunoregulatory role on the systemic inflammatory response present in preeclampsia.

Keywords: preeclampsia, magnesium sulfate, cytokines, inflammation.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	14
OBJETIVOS.....	19
SUJEITOS E MÉTODOS.....	19
RESULTADOS.....	24
DISCUSSÃO.....	28
CONCLUSÃO.....	31

INTRODUÇÃO

Os distúrbios hipertensivos da gestação constituem uma das principais causas de mortalidade materna e perinatal em todo o mundo, sendo que a pré-eclâmpsia complica 2 a 8% dessas gestações (Steeegers et al., 2010). No Brasil, a pré-eclâmpsia contribui com um quarto de todos os óbitos maternos registrados (Zanette et al., 2014).

Embora a etiologia da pré-eclâmpsia permaneça desconhecida e sua fisiopatologia ainda não totalmente elucidada, a hipótese mais discutida na literatura enfatiza a má adaptação da resposta imune e a invasão inadequada das arteríolas espiraladas pelo trofoblasto, que resultam em lesão tecidual causada por isquemia/hipóxia (Huppertz, 2008) e determinam uma reação inflamatória sistêmica, semelhante à observada na gestação normal, porém de maior intensidade (Redman & Sargent, 2005; Brewster et al., 2008; Tranquilli & Landi, 2010). Assim, esse distúrbio imunológico parece ter sua origem na placenta e contribui para a patogênese da doença (Kharfi et al., 2003; Harmon et al., 2016).

A reação inflamatória sistêmica exacerbada que ocorre na pré-eclâmpsia é caracterizada por produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias como Interleucina-1 (IL-1 β), IL-6 e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e de quimiocinas (Luppi & Deloya, 2006; Szarka et al., 2010; Peraçoli et al., 2007; 2013; Raghupathy, 2013; Ribeiro et al., 2017; Romão-Veiga et al., 2020), bem como deficiência na síntese da citocina anti-inflamatória IL-10, importante fator capaz de regular a resposta inflamatória (Cristofalo et al., 2013; Raghupathy, 2013; Aggarwal et al., 2019). A rede de citocinas envolvidas nos processos relacionados à gestação é complexa, uma vez que esses mediadores podem influenciar, fisiologicamente, mecanismos que atuam na implantação do ovo, na evolução da gestação e no mecanismo de parto. Essa rede de citocinas, quando alterada, pode se associar à complicações gestacionais como abortamento, pré-eclâmpsia e parto prematuro (Orsi & Tribe, 2008).

Na pré-eclâmpsia, as manifestações clínicas e laboratoriais que identificam essa doença são a associação de hipertensão arterial e proteinúria após a 20^a semana de gestação, ou na ausência de proteinúria, a manifestação de disfunções maternas como insuficiência renal, envolvimento hepático, complicações neurológicas ou hematológicas, disfunção útero-placentária e restrição de crescimento fetal (Brown et al., 2018; ACOG, 2019). Nesse contexto, a pré-eclâmpsia pode evoluir para situações críticas, diretamente relacionadas com as altas taxas de morbimortalidade materna e

perinatal, que são a crise ou emergência hipertensiva, a síndrome HELLP e a eclâmpsia (Peraçoli et al., 2019).

A eclâmpsia é definida pela manifestação de uma ou mais crises convulsivas tônico-clônicas generalizadas e/ou coma, em gestante com pré-eclâmpsia, na ausência de doenças neurológicas (Sibai et al., 2005), sendo considerada uma das mais sérias complicações da doença (Bartal & Sibai, 2020; Norwitz, 2021). Pode ocorrer durante a gestação, na evolução do trabalho de parto e até seis semanas após o parto (Magley & Hinson, 2020). É comumente precedida pelos sinais e sintomas de iminência de eclâmpsia, isto é, distúrbios do sistema nervoso central (cefaléia frontal/occipital, torpor, obnubilação e alterações do comportamento), visuais (escotomas, fosfenas, fotofobia, visão embaçada e amaurose) e gástricos (náuseas, vômitos e dor no hipocôndrio direito ou no epigástrico) (Magley & Hinson, 2020; Norwitz, 2021).

Apesar dos avanços na compreensão da pré-eclâmpsia, a patogênese da convulsão pré-eclâmpica não está estabelecida, sendo motivo de hipóteses e mecanismos fisiopatológicos não comprovados (Bartal & Sibai, 2020). Segundo a literatura, pode ocorrer alteração da autorregulação da circulação cerebral semelhante à da encefalopatia hipertensiva, causando interrupção da barreira hematoencefálica com passagem de fluido, íons e proteínas plasmáticas do parênquima cerebral. As células endoteliais, que revestem as paredes dos capilares da barreira hematoencefálica, se caracterizam pela presença de junções com falta de fenestrações e regulam a passagem paracelular e transcelular de moléculas e solutos entre os vasos cerebrais e o cérebro (Abbott et al., 2010; Marchi et al., 2011; Bergman et al., 2019). A autorregulação do fluxo sanguíneo cerebral é mediada e modulada por meio de controle miogênico, neurogênico, metabólico ou endotelial (Hamner & Tan, 2014; Armstead, 2016; Jones-Muhammad & Warrington, 2019).

As convulsões na gestante com pré-eclâmpsia são uma emergência médica e requerem tratamento imediato para prevenir a mortalidade materna e perinatal. Um marco histórico, tanto para prevenção como para o tratamento da convulsão da eclâmpsia foi o uso do sulfato de magnésio ($MgSO_4$), considerado a medicação de escolha para prevenção e tratamento da eclâmpsia (Duley et al., 2004; Sibai, 2004; Duley et al., 2010). Os dois esquemas atualmente recomendados (Zuspan e Pritchard) são internacionalmente aceitos como esquemas padrão, pela sua eficácia clínica comprovada nos dois maiores ensaios clínicos de $MgSO_4$ (The Eclampsia Trial

Collaborative Group, 1995; The Magpie Trial Collaborative Group, 2002) e recomendados pela Organização Mundial da Saúde (WHO-2011). No entanto, a literatura não define, com certeza, se existe diferença de eficácia relacionada à via de administração do magnésio ou da dose administrada, ficando essa escolha a critério de cada serviço (Pratt et al., 2016). A concentração considerada terapêutica mínima de 4,7 mEq/L foi sugerida com base em observações clínicas e laboratoriais de estudos que não foram delineados como estudos padrão de exposição-resposta (Eastman & Steptoe, 1945; Pritchard, 1955; Chesley & Tepper, 1957; Sibai et al., 1984).

Posteriormente, Sibai et al. (1981, 1984) descreveram que, a dose de manutenção de 1 g/hora de MgSO₄ do esquema de Zuspan não é suficiente para atingir e manter concentrações terapêuticas e propõem aumentar a concentração de manutenção para 2 g/hora, em infusão contínua, para atingir as mesmas concentrações séricas do tratamento por via intramuscular proposto por Pritchard. Assim, o esquema de Sibai sugere o emprego de dose inicial de 6 g de sulfato de magnésio, seguida de dose de manutenção de 2 g/hora, ambas administradas por via intravenosa (Sibai, 1990).

Segundo a literatura, o desconhecimento de como o MgSO₄ atua é sustentado por relatos de eficácia clínica entre gestantes pré-eclâmplicas com concentrações séricas menores de magnésio e falha clínica entre aquelas com concentrações séricas de magnésio (Aali et al., 2007; Charoenvidhya & Manotaya, 2013), dentro da faixa terapêutica geralmente aceita (concentração mínima de magnésio de 4,7 mEq/L). Embora esses ensaios demonstrem eficácia clínica comparável entre o esquema predominantemente intramuscular (Pritchard) e o intravenoso (Zuspan), também destacam a falta de entendimento sobre a dose mínima eficaz para prevenção e tratamento da eclâmpsia. Por outro lado, Saha et al. (2017) demonstraram que, a administração intramuscular de MgSO₄ é igualmente eficaz e segura em comparação com a administração intravenosa, para o controle e prevenção de convulsões em pacientes com eclâmpsia.

O mecanismo de ação do sulfato de magnésio na profilaxia e tratamento da eclâmpsia permanece pouco conhecido. Segundo Sibai (1990), alguns autores acreditam que esta ação é principalmente periférica na junção neuromuscular com mínimo ou nenhum efeito central, enquanto outros autores acreditam que a principal ação é central com efeito mínimo sobre o bloqueio neuromuscular. Assim, acredita-se

que o magnésio atua como um vasodilatador periférico, reduzindo a pressão arterial sistêmica e que protege a barreira hematoencefálica e limita o edema cerebral, aumentando o limiar de convulsão por meio de sua interação com a membrana celular [Holcberg et al., 2006; Euser & Cipolla, 2009; Amash et al. 2010a).

Além dos efeitos sobre o sistema nervoso, o sulfato de magnésio apresenta efeitos anti-inflamatórios. Se por um lado estudos sugerem que, a resposta inflamatória sistêmica exagerada da pré-eclâmpsia grave pode aumentar a sensibilidade às convulsões, por outro lado, estudos em modelos experimentais e clínicos mostram que o sulfato de magnésio, usado frequentemente como profilaxia de convulsões eclâmpicas apresentam resultados satisfatórios como agente anti-inflamatório.

Os estudos com modelos experimentais de pré-eclâmpsia mostram que, a redução da neuroinflamação pode ser um mecanismo pelo qual o sulfato de magnésio previne a eclâmpsia durante a pré-eclâmpsia grave. Liu et al. (2016) verificaram que, a pré-eclâmpsia induzida por lipopolissacáride (LPS) em ratas prenhes causa inflamação sistêmica excessiva, promovendo convulsões e aumento das concentrações sistêmicas de citocinas pró-inflamatórias. O tratamento com sulfato de magnésio diminuiu significativamente as concentrações de TNF- α e IL-1 β , aumentou o período de latência para desenvolver a convulsão e diminuiu sua duração. Os autores concluíram que, o tratamento com sulfato de magnésio reduziu a inflamação sistêmica e atenuou a gravidade das crises convulsivas. Em outro estudo, Johnson et al. (2014) verificaram que, o tratamento com sulfato de magnésio reverteu a neuroinflamação, reduzindo a ativação microglial em as ratas que apresentavam aumento do estado de suscetibilidade às convulsões, potencialmente devido ao aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica e da neuroinflamação. O tratamento com sulfato de magnésio reverteu esse processo, aumentando o limiar convulsivo e diminuindo a neuroinflamação, sem afetar a permeabilidade da barreira hematoencefálica.

Além disso, em modelo de eclâmpsia, o sulfato de magnésio protege contra o aumento no conteúdo de água do cérebro, prevenindo o edema cerebral induzido por isquemia placentária e a síntese de citocinas e quimiocinas no líquido cefalorraquidiano, apoiando a hipótese de que o sulfato de magnésio oferece neuroproteção, reduzindo a hiperexcitabilidade cerebral e morte neuronal (Zhang & Warrington 2016; Li et al., 2017). Nesse modelo animal Li et al. (2019) mostraram que,

o tratamento com sulfato de magnésio reduziu efetivamente a ativação de astrócitos e da microglia e promoveu a sobrevivência neuronal na região CA3 do hipocampo, indicando suas propriedades inibidoras da neuroinflamação e do edema. Recentemente, determinou-se no 7º dia após o parto, o efeito do sulfato de magnésio em modelo de pré-eclâmpsia induzido por LPS em ratas. Como resposta, o sulfato de magnésio melhorou os resultados maternos e fetais e diminuiu a resposta inflamatória materna, por induzir em macrófagos do rim e cérebro, a polarização dessas células com perfil inflamatório (M1) para perfil anti-inflamatório (M2). Esses achados confirmam que a fisiopatologia da pré-eclâmpsia envolve a desregulação da resposta inflamatória e a ativação de macrófagos M1 em vários órgãos-alvo durante a prenhez de ratas e que o tratamento com sulfato de magnésio atenua os efeitos pós-parto da pré-eclâmpsia (Li et al. (2021).

O sulfato de magnésio também exerce efeitos protetores no território da placenta. Em mulheres portadoras de pré-eclâmpsia precoce, que se manifesta antes de 34 semanas de gestação, verificamos aumento significativo de citocinas pró-inflamatórias, associado a menor concentração de IL-10 e lesões placentárias mais graves, sugerindo o papel da placenta na resposta inflamatória sistêmica que ocorre nessa doença (Weel et al., 2016). Estudos *in vitro*, empregando sulfato de magnésio em perfusão *ex-vivo* de placentas de gestantes pré-eclâmplicas mostram que, a placenta contribui com o aumento sérico de citocinas inflamatórias e que o sulfato de magnésio reduz a secreção aumentada de TNF- α , IL- β e IL-6 na circulação materna placentária, indicando a possibilidade do efeito terapêutico do sulfato de magnésio sobre a disfunção endotelial materna e melhorando o resultado perinatal (Amash et al., 2010a, b; 2012).

Enquanto estudos *in vitro* do efeito modulador do sulfato de magnésio sobre a produção de citocinas estão bem caracterizados, relatos da literatura considerando seu efeito terapêutico *in vivo*, sobre a concentração sérica de citocinas inflamatórias em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia são escassos. Chen et al. (2015) demonstraram que, o tratamento de gestantes pré-eclâmplicas com sulfato de magnésio e bloqueador de canal de cálcio (nifedipina) reduz a concentração circulante de IL-6. Os autores também demonstram que, o sulfato de magnésio inibe *in vitro* a ativação de células endoteliais estimuladas com IL-6, sugerindo o efeito inibidor do magnésio sobre a ativação dessas células.

Considerando-se o contexto acima exposto e ressaltando-se o papel de substâncias imunomoduladoras na fisiopatologia da pré-eclâmpsia e o reconhecido efeito terapêutico do sulfato de magnésio na prevenção e tratamento de complicações dessa doença, este projeto foi delineado para avaliar o efeito modulador de diferentes esquemas e concentrações de sulfato de magnésio intravenosos sobre citocinas pró- e anti-inflamatórias em gestantes com diagnóstico de iminência de eclâmpsia ou de eclâmpsia.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

- Avaliar o efeito modulador do magnésio, segundo dois esquemas de MgSO₄ (Esquema de Zuspan e Esquema de Sibai), sobre a resposta inflamatória sistêmica em gestantes portadoras de iminência de eclâmpsia ou de eclâmpsia.

Objetivos Específicos

- Determinar as concentrações séricas de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucinas 1 beta (IL-1 β), IL-6, IL-10 em três momentos do tratamento com MgSO₄, segundo os esquemas de Zuspan e de Sibai.
- Determinar o efeito das concentrações do magnésio sobre as concentrações de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10 em três momentos do tratamento com MgSO₄, segundo os esquemas de Zuspan e de Sibai.

SUJEITOS E MÉTODOS

Desenho do estudo e tamanho da amostra

Foi realizado estudo transversal unicego em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, que apresentaram manifestação clínica de iminência de eclâmpsia ou de eclâmpsia.

O tamanho amostral foi calculado, considerando-se a diferença de médias entre IL-1 β e TNF- α para gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, com base nos resultados apresentados em trabalho anterior (Matias et al., 2015). Considerando uma confiabilidade de 95%, poder de 90% e 20% de variabilidade nos valores de IL-1 β e de TNF- α o tamanho amostral foi de, no mínimo 16 indivíduos no grupo.

Seleção dos sujeitos

Critérios de inclusão

Foram incluídas no estudo 33 gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, que receberam assistência clínica para tratamento de iminência de eclâmpsia ou de eclâmpsia, na Maternidade do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp (HC-FMB-Unesp). As gestantes foram alocadas segundo os esquemas de MgSO₄, em dois grupos: esquema de Zuspan (16 gestantes) e esquema de Sibai (17 gestantes).

Critérios de exclusão

- Gestantes com crises convulsivas de etiologia neurológica;
- Gestantes com insuficiência renal (creatinina maior que 1,2 mg/dL e uréia maior que 40 mg/dL).

Processo de randomização

Após a assinatura do termo de Consentimento Livre e Esclarecido, a alocação dos sujeitos da pesquisa para o tratamento do estudo (Esquema de Zuspan ou Sibai) foi gerada por um número aleatório computadorizado e selado em envelope opaco numerado sequencialmente por pessoa independente e a sequência foi ocultada até que as intervenções fossem atribuídas. Uma pessoa independente abriu o envelope opaco e designou participantes aos seus grupos. A equipe de saúde que indicou e administrou o tratamento pertencia à Maternidade do HC-FMB-Unesp e não teve nenhum outro envolvimento com o estudo. Após a randomização, as informações do protocolo de pesquisa foram preenchidos pelos autores do estudo.

Variáveis de controle

- Idade materna: foi considerada a idade da mulher, em anos completos, segundo as faixas etárias: até 19 anos, entre 20 e 35 anos e 35 anos ou mais.
- Etnia: classificadas em brancas e não brancas.
- Idade gestacional: foi considerada a idade gestacional determinada no momento da inclusão no estudo, calculada pela data da última menstruação ou exame ultrassonográfico precoce (antes da 20^a semana de gestação).
- Formas de manifestação da hipertensão arterial: foram consideradas as formas - pré-eclâmpsia e hipertensão arterial crônica superposta por pré-eclâmpsia.

- Indicação do uso do MgSO₄: gestante com diagnóstico de pré-eclâmpsia isolada ou superposta à hipertensão arterial crônica que manifestou sinais/sintomas de iminência de eclâmpsia ou de eclâmpsia.

Variáveis Independentes

- Esquemas de MgSO₄: esquema de Zuspan e esquema de Sibai.
- Momento de coleta das amostras de sangue para dosagem do magnésio e das citocinas: antes do início do tratamento, após 24 horas e 48 horas de tratamento.

Variável Dependente

- Concentração sérica de citocinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10).

Conceitos (Brown et al., 2018)

- Hipertensão arterial: identificada pela presença de pressão arterial sistólica igual ou maior a 140mmHg e/ou pressão arterial diastólica igual ou maior que 90mmHg.
- Hipertensão arterial crônica: definida pela presença de hipertensão arterial antes da gestação ou diagnosticada antes da 20^a semana.
- Pré-eclâmpsia: definida pela presença de hipertensão arterial associada à proteinúria, em mulheres previamente normotensas, a partir da 20^a semana de gestação ou quando, na ausência de proteinúria manifestou comprometimento sistêmico ou disfunção de órgãos alvos (trombocitopenia, disfunção hepática, insuficiência renal, edema pulmonar, iminência de eclâmpsia ou eclâmpsia).
- Hipertensão arterial crônica superposta por pré-eclâmpsia: identificada quando a hipertensão arterial crônica esteve associada ao aumento significativo de proteinúria presente antes da 20^a semana ou que surgiu após a 20^a semana. Na ausência de proteinúria quando esteve associada à disfunção de órgãos alvos, a partir da 20^a semana de gestação.
- Eclâmpsia iminente: identificada pela manifestação de sinais de comprometimento do sistema nervoso central (cefaléia frontal, obnubilação, torpor e/ou distúrbios de comportamento), distúrbios visuais (escotomas, fosfenas, fotofobia, embaçamento da visão ou amaurose) e dor em região epigástrica ou no quadrante superior direito do abdômen.
- Eclâmpsia: identificada pela manifestação de crise convulsiva, desde que excluída qualquer doença neurológica coincidente, como a epilepsia.

Métodos

Preparo e aplicação do sulfato de magnésio

Dose inicial

- Esquema de Zuspan: quatro gramas intravenoso de forma lenta em “bolus”, preparado adicionando-se 8mL de sulfato de magnésio ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) a 50% a 12mL de soro fisiológico 0,9%.
- Esquema de Sibai: seis gramas intravenoso de forma lenta em “bolus”, preparado adicionando-se 12mL de sulfato de magnésio ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) a 50% a 8mL de soro fisiológico 0,9%.

Dose de manutenção

- Esquema de Zuspan: 10mL de sulfato de magnésio a 50% adicionado a 490mL de soro fisiológico 0,9%, com infusão contínua em bomba de infusão na velocidade de 100mL/hora (infusão de 1g por hora).
- Esquema de Sibai: 20mL de sulfato de magnésio a 50% adicionado a 480mL de soro fisiológico 0,9%, com infusão contínua em bomba de infusão na velocidade de 100mL/hora (infusão de 2g por hora).

Coleta das amostras de sangue

Foi realizada punção venosa única com cateter descartável intravenoso periférico, com asas e tubo de extensão em poliuretano (BD-Saf-T-Intima™), através do qual foram colhidas as amostras de sangue em seringa de plástico descartável sem heparina. Em seguida o sangue colhido foi colocado em tubo de 5mL, sem anticoagulante e com gel separador (BD-Vacutainer™). Toda coleta foi realizada no membro superior contralateral ao da administração do sulfato de magnésio.

As amostras de sangue foram colhidas antes do início da administração da dose inicial de cada esquema de sulfato de magnésio, 24 horas e 48 horas após o início da administração da dose inicial de cada esquema de sulfato de magnésio. O sangue periférico foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 min e o soro obtido foi armazenado a -80C até o momento da dosagem das citocinas.

Preparo das amostras de sangue para dosagem de TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10.

Para quantificação das citocinas TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10 no soro foram utilizados kits comerciais Quantikine ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA).

As reações foram desenvolvidas segundo as instruções do fabricante e descritas conforme a técnica abaixo.

Em placa de 96 orifícios e fundo plano (MaxiSorp-Nunc Life Tech. Inc., Maryland, MA, USA), previamente sensibilizada com anticorpo monoclonal anti-TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10 adicionaram-se 100 μ L do soro das gestantes ou das citocinas recombinantes. Após 2h de incubação à temperatura ambiente a placa foi lavada por quatro vezes com solução tampão e em seguida incubada com 100 μ L de anticorpo revelador policlonal anti-citocinas, seguido de incubação por 2h à temperatura ambiente. A placa foi lavada novamente e adicionados 100 μ L de estreptoavidina conjugada com peroxidase na concentração de 2 μ g/mL por 20 min a 37°C, seguida de nova lavagem com PBST. Após esse período foram adicionados 50 μ L do substrato enzimático, constituído por soluções estabilizadoras de peróxido de hidrogênio e de tetrametilbenzidina (DY999 – R&D Systems). A placa foi então incubada à temperatura ambiente ao abrigo da luz, por 20min e a reação bloqueada pela adição de 50 μ L de ácido sulfúrico 2M. A leitura da placa foi realizada em leitor de ELISA (Multiskan EFLAB, Helsinki, Finland) com comprimento de onda de 450nm. As concentrações de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10 foram calculadas a partir das curvas-padrão realizadas com as diferentes citocinas recombinantes humanas. Nos ensaios, as concentrações dos anticorpos monoclonais e policlonais, bem como das citocinas recombinantes específicas, utilizadas nas curvas-padrão, foram recomendadas pelo fabricante (R&D Systems).

Instrumento para coleta de dados

Todos os dados obtidos foram anotados no instrumento para coleta de dados.

Análise estatística

Os resultados foram avaliados por testes não-paramétricos, segundo o programa estatístico PRISM (Graph Pad, San Diego, CA, USA). O nível de significância adotado para todos os testes empregados foi de 5% ($p < 0,05$).

Aspectos éticos

Durante a realização do presente estudo foram cumpridos os princípios enunciados na Declaração de Helsinki⁽³⁰⁾. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP (protocolo no. CAAE:24799113.5.0000.5411). O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi

elaborado de acordo com o Item IV da Resolução nº 466 do Conselho Nacional de Saúde.

RESULTADOS

As características demográficas e obstétricas da população estudada encontram-se na Tabela 1.

Entre as características demográficas, aspectos quanto idade e etnia não diferenciaram os grupos estudados, predominando a faixa etária entre 20 e 35 anos e a etnia branca (Zuspan: 75% vs Sibai: 70,6%). Entre as características obstétricas houve predomínio de multíparas no grupo Zuspan (62,5% vs 37,5%) sem diferença entre nulíparas e multíparas (47,1% vs 52,9%) no grupo Sibai. No grupo Zuspan predominaram gestações a termo (62,5% vs 37,5%) e no grupo Sibai não houve diferença entre gestação a termo (47,1%) e pré-termo (52,9%). Quanto ao tipo de manifestação da pré-eclâmpsia, no grupo Sibai todas as gestações evoluíram com manifestação de pré-eclâmpsia isolada e no grupo Zuspan 87,5% evoluíram com manifestação de pré-eclâmpsia isolada e 12,5% com manifestação de hipertensão arterial crônica superposta por pré-eclâmpsia.

Tabela 1. Número e percentagem das características demográficas e obstétricas da população estudada, segundo os esquemas de MgSO₄ (Zuspan e Sibai).

Características	Zuspan n: 16	Sibai n: 17	p
Idade (anos)	26 (15-38)	24 (17-43)	0,7186 [#]
Etnia			0,6330*
Branca	12 (75,0)	12 (70,6)	
Não Branca	04 (25,0)	05 (29,4)	
Paridade			0,2002*
Nulípara	06 (37,5)	08 (47,1)	
Multípara	10 (62,5)	09 (52,9)	
Idade gestacional (sem.)			0,0465*
< 37	10 (62,5)	08 (47,1)	
≥ 37			
Tipo de HA			0,003*
Pré-eclâmpsia	14 (87,5)	17 (100)	
HAC+PE	02 (12,5)	---	

HA: Hipertensão arterial

HAC+PE: Hipertensão arterial crônica sobreposta por pré-eclâmpsia

[#] teste U de Mann-Whitney; * teste Qui-quadrado

Determinação de citocinas pró e anti-inflamatórias no soro das gestantes

A Figura 1 compara o efeito do tratamento de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia grave com dois esquemas de MgSO₄ sobre as concentrações séricas de TNF-α. Observa-se que o tratamento com o esquema de Zuspan não alterou as concentrações de TNF-α nos três momentos estudados, enquanto o tratamento com o esquema de Sibai determinou redução significativa na concentração de TNF-α nos momentos 24h e 48h em comparação ao momento pré-tratamento (0 h). Não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de gestantes pré-eclâmpicas tratadas com os dois esquemas de MgSO₄ com relação às concentrações de TNF-α nos três períodos estudados.

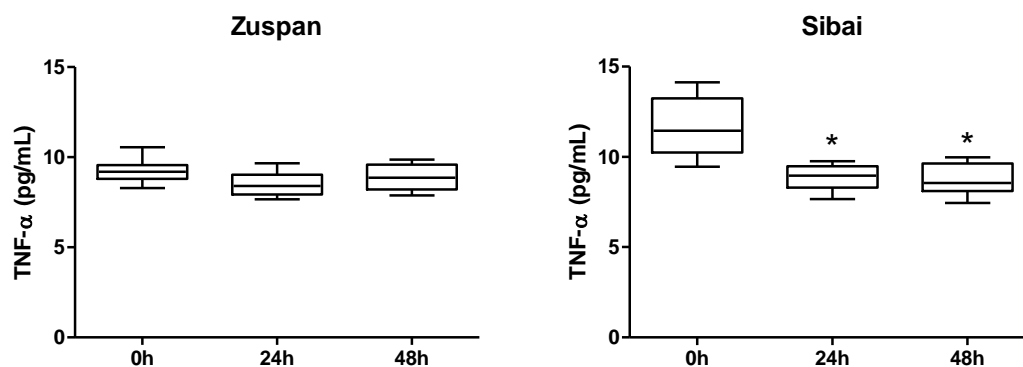


Figura 1. Concentrações de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no soro de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, submetidas ao tratamento com MgSO₄ segundo os esquemas de Zuspan e de Sibai. Resultados expressos em mediana (Linha horizontal), quartis 25 e 75 (caixa) e valores mínimo e máximo * ($p < 0.05$) vs 0h (teste de Kruskal-Wallis).

Por outro lado, ambos os esquemas de tratamento com MgSO₄ induziram diminuição estatisticamente significativa das concentrações de IL-1 β nos períodos 24h e 48h, em comparação ao período pré-tratamento (Figura 2). As concentrações da citocina no soro das gestantes portadoras de pré-eclâmpsia foram semelhantes nos dois grupos, não havendo diferenças significativas com relação ao tempo de tratamento.

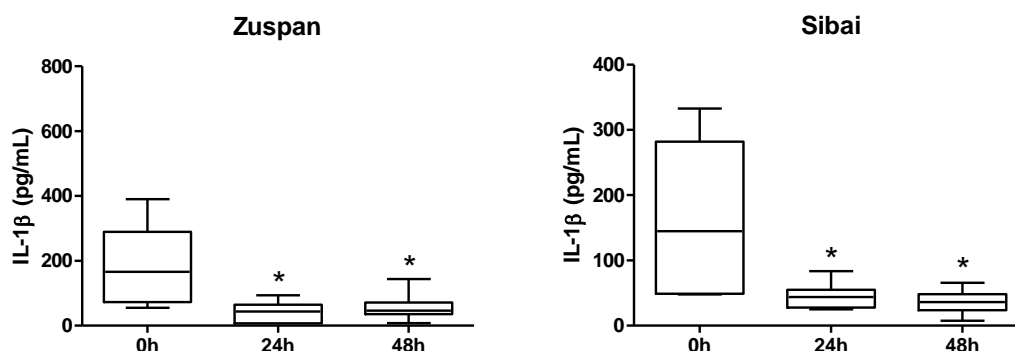


Figura 2. Concentrações de interleucina-1 beta (IL-1 β) no soro de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, submetidas ao tratamento com MgSO₄ segundo os esquemas de Zuspan e de Sibai. Resultados expressos em mediana (Linha horizontal), quartis 25 e 75 (caixa) e valores mínimo e máximo * ($p < 0,05$) vs 0h (teste de Kruskal-Wallis).

Na Figura 3 observa-se que o tratamento com o esquema de Zuspan induziu redução estatisticamente significativa da concentração sérica de IL-6 apenas no período de 48h após o tratamento, embora haja tendência a valores menores no período de 24h de tratamento. A concentração de IL-6 no período de 48h de

tratamento foi significativamente menor que no período de 24h. Por outro lado, a concentração de IL-6 nas gestantes tratadas com o esquema de Sibai foi significativamente menor tanto no período de 24h quanto de 48h em comparação com o período pré-tratamento. Não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de gestantes pré-eclâmpticas com relação às concentrações de IL-6 nos três períodos estudados.

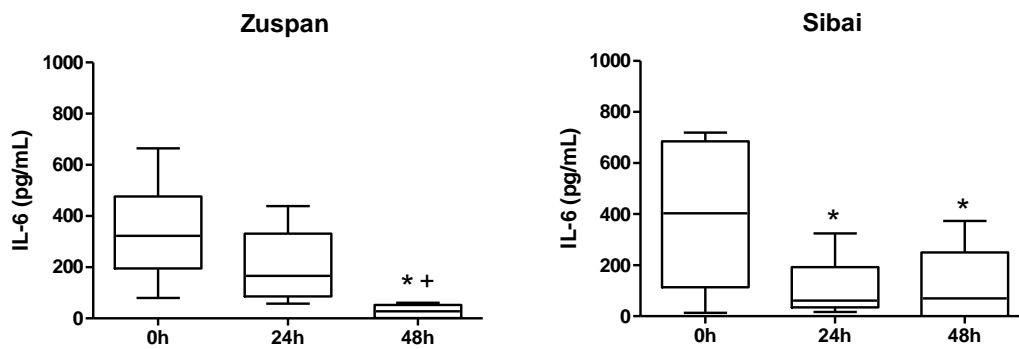


Figura 3. Concentrações de interleucina-6 beta (IL-6) no soro de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, submetidas ao tratamento com $MgSO_4$ segundo os esquemas de Zuspan e de Sibai. Resultados expressos em mediana (Linha horizontal), quartis 25 e 75 (caixa) e valores mínimo e máximo * ($p < 0,05$) vs 0h; + ($p < 0,05$) vs 24h (teste de Kruskal-Wallis).

As concentrações de IL-10 no soro foram semelhantes nos três momentos do estudo em gestantes pré-eclâmpticas tratadas com o esquema de Zuspan. Porém, o esquema de Sibai determinou aumento significativo da concentração dessa citocina no período de 48h após o tratamento, em comparação aos momentos pré-tratamento e 24h. (Figura 4). A comparação entre os grupos mostra que os valores de IL-10 foram significativamente maiores nas gestantes tratadas com o esquema do Sibai do que nas do grupo Zuspan, no período de 48h após tratamento (Figura 4).

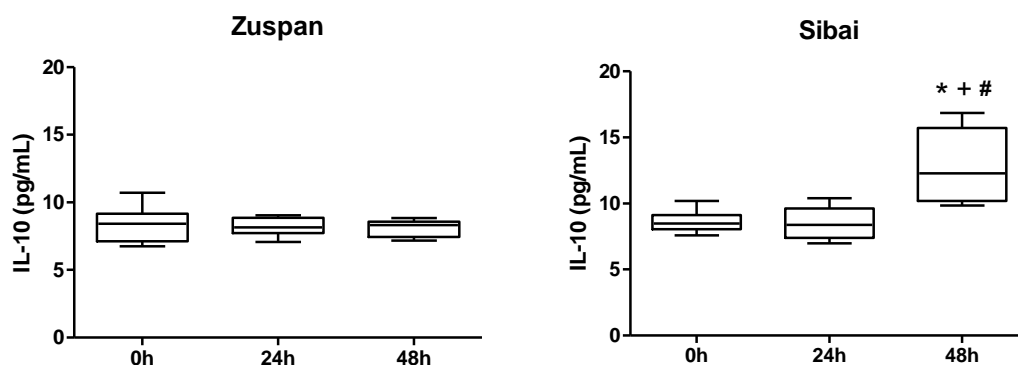


Figura 4. Concentrações de interleucina-10 (IL-10) no soro de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, submetidas ao tratamento com $MgSO_4$ segundo os esquemas de Zuspan e de Sibai. Resultados expressos em mediana (Linha horizontal), quartis 25 e 75 (caixa) e valores mínimo e máximo * ($p < 0,05$) vs 0h; + ($p < 0,05$) vs 24h; @ ($p < 0,05$) vs 48h-Esquema Zuspan (teste de Kruskal-Wallis).

DISCUSSÃO

No presente estudo avaliamos comparativamente o efeito imunomodulador do magnésio sobre a resposta inflamatória sistêmica em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia grave, submetidas ao tratamento com dois esquemas de $MgSO_4$ (Esquema de Zuspan e Esquema de Sibai). Os resultados mostram que, o tratamento dessas gestantes com $MgSO_4$ teve efeito benéfico, resultando em diminuição da concentração de IL-1 β e de IL-6 no soro das gestantes após a administração intravenosa, tanto no esquema de Zuspan como no de Sibai. A comparação entre esses dois esquemas com relação às concentrações de TNF- α mostrou que, apenas o esquema de Sibai induziu redução significativa da concentração dessa citocina nos períodos de 24 e 48h em comparação ao momento pré-tratamento. Esse tratamento também determinou redução significativa da concentração de IL-6 após 24 e 48 h de tratamento, enquanto o esquema de Zuspan induziu concentração significativamente menor de IL-6 apenas no período de 48h de tratamento, ficando essa concentração estatisticamente reduzida em comparação ao período de 24h. Por outro lado, ambos os esquemas de tratamento com $MgSO_4$ induziram diminuição estatisticamente significativa da concentração de IL-1 β nos períodos 24h e 48h, em comparação ao período pré-tratamento.

O efeito anti-inflamatório do $MgSO_4$ sobre a produção de citocinas está de acordo com relatos prévios da literatura, embora estudos clínicos considerando o

efeito terapêutico in vivo do MgSO₄, sobre a concentração sérica de citocinas inflamatórias em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, sejam escassos. Xiao et al. (2012) mostraram que, o tratamento dessas gestantes com MgSO₄ determina a redução da concentração circulante de IL-6, previamente elevada. Além disso, o esse agente quando associado ao bloqueador de canal de cálcio (nifedipina) diminuiu significativamente a concentração sérica de IL-6 em gestantes pré-eclâmpicas, além de inibir, in vitro, a ativação e secreção de IL-6 por células endoteliais estimuladas com produtos de necrose de trofoblasto placentário (Chen et al., 2015).

A maioria dos estudos sobre o efeito anti-inflamatório do MgSO₄ foram realizados in vitro ou empregando modelos experimentais de pré-eclâmpsia e eclâmpsia em ratas. O cultivo in vitro de monócitos obtidos de sangue de cordão umbilical na presença de MgSO₄ e de mediadores de ativação de receptores da imunidade inata mostrou que, o MgSO₄ diminui significativamente a produção de TNF- α e IL-6 por meio da redução da atividade do fator de transcrição nuclear NF- κ B, responsável pela transcrição e produção de citocinas inflamatórias. Esses achados sugerem o efeito imunomodulador do magnésio sobre a imunidade inata, regulando a produção de citocinas inflamatórias em neonatos que nasceram prematuros e atuando como protetor contra paralisia cerebral (Sugimoto et al., 2012). Outros estudos in vitro relatam o potencial efeito anti-inflamatório do MgSO₄ após perfusão placentária com esse fármaco, causando redução da secreção de IL-1, IL-6 e TNF- α por placentas de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia (Amash et al., 2010a, b; 2012). Suzuki-Kakisaka et al. (2013) mostraram que monócitos de neonatos pré-termo e a linhagem celular de monócitos humanos THP1 estimulados com LPS apresentam redução da secreção de IL-1, IL-6, IL-8 e TNF- α após tratamento in vitro com MgSO₄. Assim, segundo a literatura, o tratamento com MgSO₄ pode determinar aumento da concentração do íon magnésio intracelular, reduzindo a produção de citocinas inflamatórias e atuando como mecanismo importante para prevenir paralisia cerebral, eclâmpsia e parto prematuro (Suzuki-Kakisaka et al., 2013; Saha et al., 2017; Chollat et al., 2019).

O efeito do tratamento com MgSO₄, em modelos experimentais de pré-eclâmpsia e eclâmpsia, induzidas em ratas por inoculação de LPS ou isquemia placentária, mostrou que esse agente tem papel neuroprotetor sobre convulsões, diminuindo a inflamação e edema cerebrais e a concentração das citocinas inflamatórias IL-1 β e TNF- α no líquido cefalorraquidiano de animais tratados, a partir

do 14^o dia de prenhez (Zhang et al., 2016; Li et al., 2017, 2019). Estudos sobre o mecanismo envolvido no efeito imunomodulador do magnésio sobre o sistema imune são recentes. Esse agente é capaz de atenuar a inflamação no tecido cerebral, diminuindo a expressão de IL-1 β , TNF- α e caspase-3, induzida por LPS, por seu efeito regulador sobre as vias de sinalização envolvidas no estresse oxidativo, resposta inflamatória e apoptose (Katib et al., 2020). Zhu et al. (2019) mostraram que, o magnésio tem papel relevante na homeostase de células endoteliais, sendo seu emprego efetivo no tratamento da disfunção vascular. Segundo os autores, ao entrar nas células esse íon reduz a produção de citocinas inflamatórias por inibição da fosforilação e translocação do fator de transcrição nuclear NF-kB, regulando assim, a produção de TNF- α , IL-1 β e de reativos intermediários do oxigênio, que induzem estresse oxidativo.

Nosso estudo mostrou que, gestantes pré-eclâmpticas tratadas com MgSO₄ segundo o esquema de Sibai, apresentaram, além da redução da concentração sérica de IL-1 β , TNF- α e IL-6, aumento da concentração de IL-10 no período de 48h em comparação ao pré-tratamento. Esses valores foram significativamente maiores do que os observados no momento pré-tratamento e 24h pós-tratamento e, significativamente mais elevados do que nas gestantes tratadas com o esquema de Zuspan, avaliadas no período de 48h. Zhao et al. (2020) mostram que, gestantes com hipertensão induzida pela gestação e tratadas com 25% de MgSO₄ por via intravenosa, associado ou não a nifedipina, apresentam maior concentração de IL-10 em comparação à concentração antes do tratamento, sugerindo um efeito modulador positivo do magnésio sobre a produção dessa citocina anti-inflamatória. Nossos resultados podem ser explicados pelos efeitos da maior concentração de magnésio nas gestantes tratadas segundo o esquema de Sibai. Em estudo anterior, Batista et al. (2016) avaliaram a concentração sérica de magnésio em gestantes com pré-eclâmpsia, submetidas aos esquemas de Zuspan ou de Sibai em nove momentos: antes do tratamento e após 15, 30, 60 e 90min e 2h, 4h, 12h e 24h de tratamento. Os resultados demonstraram que, em todos os momentos estudados, a média da concentração sérica do íon magnésio nas gestantes do esquema de Sibai foi significativamente maior do que nas gestantes do esquema de Zuspan e que, em nenhum momento a concentração de magnésio determinou efeitos tóxicos.

O efeito da maior concentração do MgSO₄, induzindo maior concentração de IL-10 nas gestantes tratadas com o esquema de Sibai, ressalta seu papel anti-

inflamatório e imunomodulador em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia grave. A concentração sérica de IL-10 está significativamente diminuída em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, principalmente nos casos graves (Peraçoli et al., 2013) em comparação com a de gestantes normotensas (Cristofalo et al., 2013; Ribeiro et al., 2017; Agarwal et al., 2019), mostrando que a menor produção de IL-10 contribui para a inflamação sistêmica, característica da pré-eclâmpsia. Na gestação normal detecta-se maior concentração de IL-10, mostrando que essa citocina tem papel importante na manutenção de uma gestação saudável. A predominância de IL-10 sobre a produção de TNF- α , que ocorre durante a gestação normal, tem a finalidade de minimizar o desenvolvimento e os efeitos deletérios de uma resposta inflamatória excessiva, que se instala na pré-eclâmpsia (Ribeiro et al., 2017). Assim, o presente estudo corrobora a ação clínica do sulfato de magnésio na proteção materna frente a sinais de iminência de eclâmpsia e de eclâmpsia, determinada pelo efeito imunomodulador do magnésio ao diminuir a produção de citocinas inflamatórias e aumentar a de IL-10 segundo o tratamento com o esquema de Sibai. Portanto, a ação imunomoduladora do magnésio, obtida com a dose de manutenção de dois gramas de sulfato de magnésio, foi maior que a da dose de um grama no tratamento das situações de iminência de eclâmpsia e de eclâmpsia.

CONCLUSÃO

O presente estudo permite concluir que, em gestantes portadoras de iminência de eclâmpsia ou de eclâmpsia o tratamento com MgSO₄, segundo o esquema de Sibai, determinou efeito imunomodulador mais precoce sobre a produção de citocinas pró-inflamatórias que o esquema de Zuspan e induziu aumento da citocina anti-inflamatória IL-10, demonstrando maior efeito do magnésio sobre a resposta inflamatória sistêmica, característica da pré-eclâmpsia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aali BS, Khazaeli P, Ghasemi F. Ionized and total magnesium concentration in patients with severe preeclampsia-eclampsia undergoing magnesium sulfate therapy. *J Obstet Gynaecol Res.* 2007; 33:138-43.
- Abbott NJ, Patabendige AA, Dolman DE, Yusof SR, Begley DJ. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis.* 2010; 37:13–25.
- Aggarwal R, Jain AK, Mittal P, Kohli M, Jawanjal P, Rath G. Association of pro- and anti-inflammatory cytokines in preeclampsia. *J Clin Lab Anal.* 2019; 33:e22834.
- Amash A, Weintraub AY, Sheiner E, Zeadna A, Huleihel M, Holcberg G. Possible therapeutic effect of magnesium sulfate in pre-eclampsia by the down-regulation of placental tumor necrosis factor-alpha secretion. *Eur Cytokine Netw.* 2010a; 21:58-64.
- Amash A, Holcberg G, Sheiner E, Huleihel M. Magnesium sulfate normalizes placental interleukin-6 secretion in pre-eclampsia. *J Interferon Cytokine Res.* 2010b; 30:683–90.
- Amash A, Holcberg G, Sapir O, Huleihel M. Placental secretion of interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist in preeclampsia: effect of magnesium sulfate. *J Interferon Cytokine Res.* 2012; 32:432-41.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. Clinical Management Guidelines for Obstetrician–Gynecologists. ACOG practice bulletin number 202. Gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2019; 133: e1-e25.
- Armstead WM. Cerebral blood flow autoregulation and dysautoregulation. *Anesthesiol Clin* 2016; 34:465–77.
- Bartal MF, Sibai BM. Eclampsia in the 21st century. *Am J Obstet Gynecol.* 2020; S0002-9378:31128-5.
- Batista FRG, Poiati JR, Costa RAA, Peraçoli MTS, Peraçoli JC, Borges VTM. Serum concentration of magnesium sulfate in pregnant women with preeclampsia, submitted to regimens proposed by Zuspan and Sibai. *Pregnancy Hypertens.* 2016; 6:213.
- Bergman L, Torres-Vergara P, Penny J, Wikström J, Nelander M, Leon J, Tolcher M, Roberts JM, Wikström AK, Escudero C. Investigating maternal brain alterations in preeclampsia: the need for a multidisciplinary effort. *Curr Hypertens Rep.* 2019; 21:72.
- Brewster JA, Orsi NM, Gopichandran N, McShane P, Ekbote UV, Walker JJ. Gestational effects on host inflammatory response in normal and pre-eclamptic pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008; 140:21-6.
- Brown MA, Magee LA, Kenny LC, Karumanchi SA, McCarthy FP, Saito S, Hall DR, Warren CE, Adoyi G, Ishaku S; International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). Hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis, and management recommendations for international practice. *Hypertension.* 2018; 72:24-43.
- Charoenvidhya D, Manotaya S. Magnesium sulfate maintenance infusion in women with preeclampsia:a randomized comparison between 2 gram per hour and

1 gram per hour. *J Med Assoc Thai.* 2013; 96:395-8.

Chen Q, Zhao M, Guo F, Yin YX, Xiao JP, Stone PR, Chamley LW. The reduction of circulating levels of IL-6 in pregnant women with preeclampsia by magnesium sulphate and nifedipine: In vitro evidence for potential mechanisms. *Placenta.* 2015; 36:661-6.

Chesley LC, Tepper I. Levels of magnesium attained in magnesium sulfate therapy for preeclampsia and eclampsia. *Surg Clin North Am.* 1957; 37:353-67.

Chollat C, Sentilhes L, Marret S. Protection of brain development by antenatal magnesium sulphate for infants born preterm. *Dev Med Child Neurol.* 2019; 61:25-30.

Cristofalo R, Bannwart-Castro CF, Magalhães CG, Borges VT, Peraçoli JC, Witkin SS, Peraçoli MT. Silibinin attenuates oxidative metabolism and cytokine production by monocytes from preeclamptic women. *Free Radic Res.* 2013; 47:268-75.

Duley L, Gülmezoglu AM, Henderson-Smart DJ. Magnesium sulphate and other anticonvulsants for women with pre-eclampsia (Cochrane Review). In: *The Cochrane Library, Issue 4, 2004.* Oxford: Update Software.

Duley L, Gülmezoglu AM, Henderson-Smart DJ. Magnesium sulphate and other anticonvulsants for women with pre-eclampsia. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* In: *The Cochrane Library, Issue 3, Art. No. CD000025, 2010.*

Eastman NJ, Steptoe PP. The management of pre-eclampsia. *Can Med Assoc J.* 1945; 52:562-8.

Euser AG, Cipolla MJ. Magnesium sulfate for the treatment of eclampsia, a brief review. *Stroke.* 2009; 40:1169–75.

Hamner JW, Tan CO. Relative contributions of sympathetic, cholinergic, and myogenic mechanisms to cerebral autoregulation. *Stroke.* 2014; 45:1771–7.

Harmon AC, Cornelius DC, Amaral LM, Faulkner JL, Cunningham MW Jr, Wallace K, LaMarca B. The role of inflammation in the pathology of preeclampsia. *Clin Sci (Lond).* 2016; 130:409-19.

Holcberg G, Amash A, Sapir O, et al. Different effects of magnesium sulfate and angiotensin II on the capacity of the fetal and maternal compartments of normal human placenta to secrete TNFalpha and IL-6. *J Reprod Immunol.* 2006; 69:115–25.

Huppertz B. Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. *Hypertension.* 2008; 51:970-5.

Johnson AC, Tremble SM, Chan S, Moseley J, LaMarca B, Nagle KJ, Cipolla MJ. Magnesium sulfate treatment reverses seizure susceptibility and decreases neuroinflammation in a rat: model of severe preeclampsia. *Plos One.* 2014; 9(11)e113670.

Jones-Muhammad M, Warrington JP. Cerebral blood flow regulation in pregnancy, hypertension, and hypertensive disorders of pregnancy. *Brain Sci.* 2019; 9:224.

- Kharfi A, Giguère Y, Sapin V, Massé J, Dastugue B, Forest JC. Trophoblastic remodeling in normal and preeclamptic pregnancies: implication of cytokines. *Clin Biochem.* 2003; 36:323-31.
- Khatib N, Ginsberg Y, Shalom-Paz E, Dabaja H, Gutzeit O, Zmora O, Millo Z, Ross MG, Weiner Z, Beloosesky R. Fetal neuroprotective mechanism of maternal magnesium sulfate for late gestation inflammation: in a rodent model. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2020; 33:3732-9.
- Li X, Han X, Yang J, Bao J, Di X, Zhang G, Liu H. Magnesium sulfate provides neuroprotection in eclampsia-like seizure model by ameliorating neuroinflammation and brain edema. *Mol Neurobiol.* 2017; 54:7938–48.
- Li X, Liu H, Yang Y. Magnesium sulfate attenuates brain edema by lowering AQP4 expression and inhibits glia-mediated neuroinflammation in a rodent model of eclampsia. *Behav Brain Res.* 2019; 364:403-12.
- Li X, Li L, Tao L, Zheng H, Sun M, Chen Y, Chen Y, Yang Y. Magnesium sulfate prophylaxis attenuates the postpartum effects of preeclampsia by promoting M2 macrophage polarization. *Hypertens Res.* 2021; 44:13-22.
- Liu L, Han X, Huang Q, Zhu X, Yang J, Liu H. Increased neuronal seizure activity correlates with excessive systemic inflammation in a rat model of severe preeclampsia. *Hypertens Res.* 2016; 39:701-8.
- Luppi P, Deloia JA. Monocytes of preeclamptic women spontaneously synthesize pro-inflammatory cytokines. *Clin Immunol.* 2006; 118:268-75.
- Magley M, Hinson MR. Eclampsia. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.
- Marchi N, Tierney W, Alexopoulos AV, Puvenna V, Granata T, Janigro D. The etiological role of blood-brain barrier dysfunction in seizure disorders. *Cardiovasc Psychiatry Neurol.* 2011; 2011:482415.
- Matias ML, Romão M, Weel IC, Ribeiro VR, Nunes PR, Borges VT, Araújo JP Jr, Peraçoli JC, de Oliveira L, Peraçoli MT. Endogenous and uric acid-induced activation of NLRP3 inflammasome in pregnant women with preeclampsia. *PLoS One* 2015; 10:e0129095
- Norwitz ER. Eclampsia. *Up To Date*, March, 2021.
- Orsi NM, Tribe RM. Cytokine networks and the regulation of uterine function in pregnancy and parturition. *J Neuroendocrinol.* 2008; 20:462-9.
- Peraçoli JC, Bannwart-Castro CF, Romao M, Weel IC, Ribeiro VR, Borges VT, Rudge MV, Witkin SS, Peraçoli MT. High levels of heat shock protein 70 are associated with pro-inflammatory cytokines and may differentiate early- from late-onset preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2013; 100:129-34.
- Peraçoli JC, Borges VTM, Ramos JGL, Cavalli RC, Costa SHAM, Oliveira LG, Souza FLP, Korkes HA, Brum IR, Costa ML, Corrêa Junior MD, Sass N, Diniz ALD, Prado CAC, Cunha Filho EVD. Pre-eclampsia/Eclampsia. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2019; 41:318-32.

Pritchard JA. The use of magnesium ion in the management of eclamptogenic toxemia. *Obstet Gynecol.* 1955; 100:131-40.

Raghupathy R. Cytokines as key players in the pathophysiology of preeclampsia. *Med Princ Pract.* 2013; 22:8-19.

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

Ribeiro VR, Romao-Veiga M, Romagnoli GG, Matias ML, Nunes PR, Borges VTM, Peracoli JC, Peracoli MTS. Association between cytokine profile and transcription factors produced by T-cell subsets in early- and late-onset pre-eclampsia. *Immunology.* 2017; 152:163-73.

Romão-Veiga M, Bannwart-Castro CF, Borges VTM, Golim MA, Peraçoli JC, Peraçoli MTS. Increased TLR4 pathway activation and cytokine imbalance led to lipopolysaccharide tolerance in monocytes from preeclamptic women. *Pregnancy Hypertens.* 2020; 21:159-65.

Saha PK, Kaur J, Goel P, Kataria S, Tandon R, Saha L. Safety and efficacy of low dose intramuscular magnesium sulphate (MgSO₄) compared to intravenous regimen for treatment of eclampsia. *J Obstet Gynaecol Res.* 2017; 43:1543-9.

Sibai BM, Lipshitz J, Anderson GD, Dilts P V. Reassessment of intravenous MgSO₄ therapy in preeclampsia-eclampsia. *Obstet Gynecol.* 1981; 57:199–202.

Sibai BM, Graham JM, McCubbin JH. A comparison of intravenous and intramuscular magnesium sulfate regimens in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1984; 150:728–33.

Sibai BM. Magnesium sulfate is the ideal anticonvulsant in preeclampsia-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1990; 162:1141-5.

Sibai BM. Magnesium sulfate prophylaxis in preeclampsia: Lessons learned from recent trials. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190:1520-6.

Sibai BM, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2005; 365:785-99.

Stegers EA, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2010; 376:631–44.

Sugimoto J, Romani AM, Valentin-Torres AM, Luciano AA, Ramirez Kitchen CM, Funderburg N, Mesiano S, Bernstein HB. Magnesium decreases inflammatory cytokine production: a novel innate immunomodulatory mechanism. *J Immunol.* 2012; 188:6338-46.

Suzuki-Kakisaka H, Sugimoto J, Tetarbe M, Romani AM, Ramirez Kitchen CM, Bernstein HB. Magnesium sulfate increases intracellular magnesium reducing inflammatory cytokine release in neonates. *Am J Reprod Immunol.* 2013; 70:213-20.

Szarka A, Rigó J Jr, Lázár L, Beko G, Molvarec A. Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. *BMC Immunol.* 2010; 11:59.

The Eclampsia Trial Collaborative Group. Which anticonvulsant for women with eclampsia? Evidence from the Collaborative Eclampsia Trial. *Lancet*. 1995; 354:1455–63.

The Magpie Trial Collaborative Group. Do women with pre-eclampsia, and their babies, benefit from magnesium sulphate? The Magpie Trial: a randomised placebo controlled trial. *Lancet*. 2002; 359:1877-90.

Tranquilli AL, Landi B. The origin of pre-eclampsia: from decidual "hyperoxia" to late hypoxia. *Med Hypotheses*. 2010; 75:38-46.

Weel IC, Baergen RN, Romão-Veiga M, Borges VT, Ribeiro VR, Witkin SS, Bannwart-Castro C, Peraçoli JC, De Oliveira L, Peraçoli MT. Association between placental lesions, cytokines and angiogenic factors in pregnant women with preeclampsia. *PLoS One*. 2016; 11(6):e0157584.

World Health Organization. WHO Recommendations for Prevention and Treatment of Pre-Eclampsia and Eclampsia. Geneva: World Health Organization; 2011.

Xiao J, Yin Y, Shen F, Zhao J, Chen Q. Treatment with magnesium sulphate reduced the serum level of IL-6 in preeclamptic women. *Pregnancy Hypertens*. 2012; 2:177.

Zanette E, Parpinelli MA, Surita FG, Costa ML, Haddad SM, Sousa MH, E Silva JL, Souza JP, Cecatti JG; Brazilian Network for Surveillance of Severe Maternal Morbidity Group. Maternal near miss and death among women with severe hypertensive disorders: a Brazilian multicenter surveillance study. *Reprod Health*. 2014; 11:4.

Zhang LW, Warrington JP. Magnesium sulfate prevents placental ischemia-induced increases in brain water content and cerebrospinal fluid cytokines in pregnant rats. *Front Neurosci*. 2016; 10:561.

Zhao F, Ai F, Wu J, Dong X. Changes and clinical significance of serum inflammatory factors in the treatment of pregnancy hypertension syndrome with magnesium sulfate combined with nifedipine. *Exp Ther Med*. 2020; 20:1796-802.